MEDICINA PENTRU TOȚI

93

IOANA MOȚOIU ADRIANA DUMITRESCU

IMUNITATEA
o problemă mereu actuală

ȘTIINȚA ȘI TEHNICA PENTRU TOȚI
SERIA MEDICINĂ

IMUNITATEA
o problemă mereu actuală

IOANA MOȚOIU ADRIANA DUMITRESCU

EDITURA MEDICALĂ
București, 1990

25 august 1992
= Constanța =

Coperta de Adrian Constantinescu

ISBN 973-39-0090-7

CUPRINS

	Pag.
Cuvînt înainte	5
Ce este imunitatea și cînd a apărut pe scară animală (Adriana Dumitrescu)	9
Limfocitul, celula cheie a reacțiilor imune	19
Povestea limfocitului mic (Ioana Moțoiu)	19
Există un singur tip de limfocit sau mai multe ? (Ioana Moțoiu)	20
Ce știm despre limfocit în perioada actuală (Ioana Moțoiu și Adriana Dumitrescu)	22
Studiul limfocitului în eprubetă (Ioana Moțoiu)	36
Limfocitele nu sînt singure pe cîmpul de luptă (Adriana Dumitrescu)	41
Răspunsul imun	49
Sisteme teoretice (Ioana Moțoiu)	49
Comanda genetică a răspunsului imun (Ioana Moțoiu)	56
Sistemul imun în acțiune (Adriana Dumitrescu)	60
Ce boli pot produce dereglările imunității (Ioana Moțoiu)	81
Deficitele imune	84
Boli prin exces de reacție imună	94
Boli alergice	94
Boli prin complexe imune	98
Boli autoimune	102
Perspective în manipularea bolilor imunității	107

CUVÎNT ÎNAINTE

O carte de imunologie pentru nespecialiști poate să fie fascinantă, avînd în vedere importanța imunității în perpetuarea vieții la om și la animale și mecanismul cu totul deosebit al funcțiilor sistemului imun. Istoria însăși a dezvoltat cunoștințe în acest domeniu care constituie o pasionantă problemă pentru medici bineînțeles, dar și pentru oricine este preocupat de evoluția cunoașterii lumii vii, cu înlănțuirea proceselor genetice, moleculare și celulare pentru asigurarea protecției organismului de agenții agresivi infecțioși. Abordată astfel, se înțelege că imunologia a apărut și s-a dezvoltat ca o parte a microbiologiei și bolilor infecțioase odată cu metodele de vaccinare și cu metodele de diagnostic serologic al bolilor infecțioase. Trebuie remarcată perioada ultimilor 10 ani ai secolului trecut cînd două mari personalități fundamentează știința imunologică sub aspectul ei biologic și sub aspectul ei practic în tratamentul și profilaxia bolilor infecțioase. Acestea sînt Elie Metchinicoff care descoperă fagocitoza, adică funcția celulei sanguine de a capta și a distruge un agent străin, ca fondator al imunologiei celulare și Louis Pasteur care între alte descoperiri fundamentale de imunochimie prepară și introduce în practică vaccinul antirabic. De

atunci și pînă acum, timp de 100 de ani, funcția de imunitate și știința imunologică s-a diversificat într-un mod cu totul neobișnuit și a devenit un model de cunoaștere în care se recunoaște nevoia remarcabilă a omului de știință de a adînci fenomenele biologice de bază, dar concomitent grija și pasiunea permanentă a medicului de a proteja ființa omenească prin dezvoltarea mijloacelor terapeutice contra agenților infecțioși.

Am o deosebită satisfacție ca să scriu cîteva cuvinte pentru a semnala și recomanda această mică monografie redactată cu competență deosebită de colaboratoarele mele dr. Ioana Moțoiu și biol. Adriana Dumitrescu care au dezvoltat în cadrul Clinicii de Hematologie cercetarea imunologiei celulare cu tehnici superioare puse la punct în Laboratorul de Culturi de Celule ale sistemelor hematopoietic și imun.

Amintesc că împreună cu dr. Ioana Moțoiu și dr. Mariana Gociu am redactat în anul 1969 o monografie asupra vieții celulei sanguine și imunologice studiate in vitro, adică în culturi de țesuturi. De atunci experiența laboratorului s-a dezvoltat și cele două colaboratoare au toată competența de a înfățișa problemele fundamentale teoretice și practice ale imunității actuale.

Voi semnala cîteva din aspectele deosebite ale acestei științe noi, imunologia, îmbogățită mai ales pe planuri speciale în ultimii 25 de ani.

Așa cum cititorul atent va afla din lectura cărții, sistemul imun apare ca un sistem de comandă cibernetică cu un „proiect" de execuție, conținut ca „informație" în zestrea imunologică a celulelor sistemului imun denumite celule imunologic competente. Remarcăm de la început, din definiția sistemului, relația între structura funcțională genetică endogenă a sistemului și factorii externi agresivi, bacterii, virusuri, paraziți etc., relație care se desfășoară în planul general biologic de

homeostazie pentru a proteja organismul viu. Comenzile se execută într-o desfășurare logică și duc la rezultatul final, eliminarea agresorului.

Autoarele au expus limpede, ilustrînd cu scheme sugestive, înlănțuirea și cooperarea factorilor celulari și a factorilor humorali și moleculari care asigură execuția proiectului imun. Se evidențiază rolul sistemului de limfocite „ajutătoare" și „supresoare" ale secreției de anticorpi în sistemul limfocitar B care secretă anticorpii. Este evidențiat clar rolul macrofagului, adică al celulei fagocitante descoperite de Metchinicoff acum 100 de ani în captarea și curățirea organismului de agenți externi, antigenele, precum și produsului final „complexele imune" din combinația anticorpilor cu antigenele. Achizițiile recente privind rolul comenzii imunologice genetice în sistemele de histocompatibilitate sînt de asemenea reliefate, astfel că cititorul va înțelege importanța unei dereglări genetice în anumite boli imunologice.

Evoluția de milioane de ani a ființelor vii cu perfecționarea sistemului imun se înțelege acum și mai bine în cele două componente ale funcției imun, funcția de eliminare a agresorului străin (non self) prin răspuns imunologic și funcția de conservare a structurilor endogene ale organismului în așa-zisa toleranță imunologică înnăscută. Legat de această toleranță s-au conturat diferențele antigenice de structură între indivizi și imunitatea de transplantare. Orice om interesat de problemele generale științifice știe acum că transplantul de organe, rinichi, măduvă osoasă, cord este posibil numai între indivizi asemănători din punct de vedere antigenic, adică dacă se poate „identici" în sistemul HLA (Human Leucocyte Antigen = Antigenul leucocitelor umane).

Din aceste date sumare se pot contura bolile sistemului imun ca boli ale răspunsului imun (deficite imune

și boli prin exces de răspuns imun, alergo-anafilactice) și boli ale toleranței imune, așa-zisele boli autoimune. S-a considerat de un mare imunolog al secolului, Paul Erlich, că organismul posedă o funcție de horor autotoxicus *adică oroare de a se întoarce asupra organismului propriu cu reacții toxice. În prezent se știe, mai ales după lucrările excepționale ale grupului englez Brent și Medawar, laureați cu Premiul Nobel, asupra toleranței imune în jur de 1960, că această toleranță se poate rupe și să producă în organism reacții „autoagresive" apărînd boli autoimune ca lupusul eritematos diseminat, anemia hemolitică autoimună și bine cunoscuta boală articulară, poliartrita cronică evolutivă. Progresele din ultimii 25 de ani au precizat bine metodele imunologice de diagnostic al bolilor autoimune și au pus la punct tratamentele pentru aceste boli.*

Închei amintind că imunitatea și imunologia sînt o achiziție de cunoștințe științifice deosebite care au determinat apariția unor cărți de meditație și filozofie biologică pornind de la funcția sistemului imun ca model de cooperare a factorilor biologici care asigură viața. Personal în unele scrieri ale mele am atras atenția asupra acestui model de cunoaștere a lumii vii cu implicații în evoluția formală de cultură a societății umane. Precizez că aceasta au făcut-o mai bine savanți de înaltă competență ca Metchinicoff însuși prin cele două cărți apărute înainte de 1914 — „Eseu asupra imperfecțiunii umane" și „Eseu optimist". Amintesc apoi cărțile traduse și în limba română ale descoperitorilor codului genetic, Monod și Jacob, care constituie o meditație filozofică asupra structurii și evoluției ființelor vii și a omului gînditor, creator de cultură.

Prof. dr. doc. Șt. Berceanu

CE ESTE IMUNITATEA ȘI CÎND A APĂRUT PE SCARA ANIMALĂ

Condiție *sine qua non* a supraviețuirii individului și, implicit a speciei, menținerea integrității organismului viu în cadrul mediului său de viață și în interrelațiile cu celelalte viețuitoare, este posibilă numai prin dezvoltarea unor mecanisme eficiente de apărare. Unul din principalele eforturi de adaptare ale plantelor și animalelor deopotrivă, în lupta lor pentru existență, se îndreaptă de aceea spre perfecționarea acelor mijloace de apărare care să permită supraviețuirea unui număr suficient de indivizi pentru a asigura menținerea populației și, deci, a speciei date. Selecția naturală le alege pe acelea care pot apăra mai bine organismele de cei mai primejdioși dușmani sau de cele mai vitrege condiții de viață, care ar putea periclita specia.

Animalele sînt astfel înzestrate cu coarne, colți, clești ascuțiți, elimină substanțe iritante sau otrăvitoare,

veninuri, fug sau se ascund, împrumută culoarea mediului în care trăiesc, se camuflează, altele, dimpotrivă, atrag atenția prin culorile lor vii care avertizează că posedă arme de temut, și lista poate continua pe multe pagini.

Dar există și dușmani perfizi, așa cum sînt microorganismele parazite, imposibil de evitat, care au o uriașă capacitate de reproducere și răspîndire, fiind principalii acuzați în procesul intentat multor epidemii. Față de acești inamici invizibili ai sănătății animalelor nu pot exista decît mijloace interne de apărare, organismul trebuind să accepte lupta pe propriile baricade.

Deși încă din antichitate se recunoștea inflamația ca reacție a corpului atacat, medicul roman Aulus Cornelius Celse indicînd cele patru semne clasice : *dolor, calor, rubor, tumor* (durerea, căldura, roșeața și tumefierea), nu se știa cine și cum atacă, cine apără organismul și prin ce mijloace anume. Misterul a început să fie dezlegat în secolul trecut. Și, dacă un savant francez, Louis Pasteur, a dezvăluit „invadatorii", savantul rus Ilia Metchinikoff, laureat al Premiului Nobel, i-a descoperit pe combatanți și mijloacele lor de luptă.

Dar lupta trebuie dusă și împotriva unor molecule, celule, țesuturi și organe care se deosebesc de legile proprii de organizare ale unui organism dat.

Toate aceste materiale străine pentru un organism dat, reprezintă *non-self*-ul (non-autologul). Acesta trebuie distrus și îndepărtat pentru a se asigura menținerea integrității planului individual de organizare, ceea ce presupune existența unui mecanism de discriminare între propriu (*self*, autolog) și străin (*non-self*, non-autolog). Această capacitate de discriminare a *self*-ului de *non-self* reprezintă una din trăsăturile definitorii ale

funcției de apărare imună. Ca urmare a recunoașterii *non-self*-ului se declanșează răspunsul imun, modalitate de reactivitate specifică a organismelor vertebratelor, realizată prin țesutul limfoid.

În funcție de tipul, cantitatea și calea de pătrundere a antigenului (*non-self*-ului) ca și de calitățile genetice și starea fiziologică a organismului atacat, imunitatea îmbracă forme variate : imunitatea antiinfecțioasă, antivirală, antifungică, răspunsuri de hipersensibilitate imediată sau tardivă, imunitatea antitumorală. Aceste răspunsuri imune pot fi înnăscute sau pot fi dobîndite în mod natural sau artificial. În raport cu mecanismele de răspuns imun și tipul efectorului imunologic implicat, distingem două grupe mari de procese imunologice : imunitatea mediată prin anticorpi (imunitatea umorală) și imunitatea mediată celular.

Ce știm în prezent despre imunitate ?

Progresele înregistrate în ultimii douăzeci de ani în domeniul imunologiei se datoresc în parte cercetărilor fundamentale dar și perseverenței imunologilor clinicieni care au explorat contribuția sistemului imun în situații clinice cu cauză primară necunoscută. În nici o arie a științelor bio-medicale nu s-a realizat un progres atît de mare prin interdependența cercetării fundamentale cu cea clinică, așa cum s-a întîmplat în imunologie.

Să încercăm să dezvăluim unele din tainele acestor formidabile mecanisme de apărare ale animalelor.

Urmînd sfatul lui Aristotel, care, cu patru sute de ani înaintea erei noastre susținea că „numai atunci poți înțelege esența lucrurilor, cînd cunoști originea și evoluția lor", să vedem *cînd a apărut imunitatea pe scară animală* și cum s-au dezvoltat și perfecționat mecanismele imunologice în cursul evoluției animalelor (fig. 1).

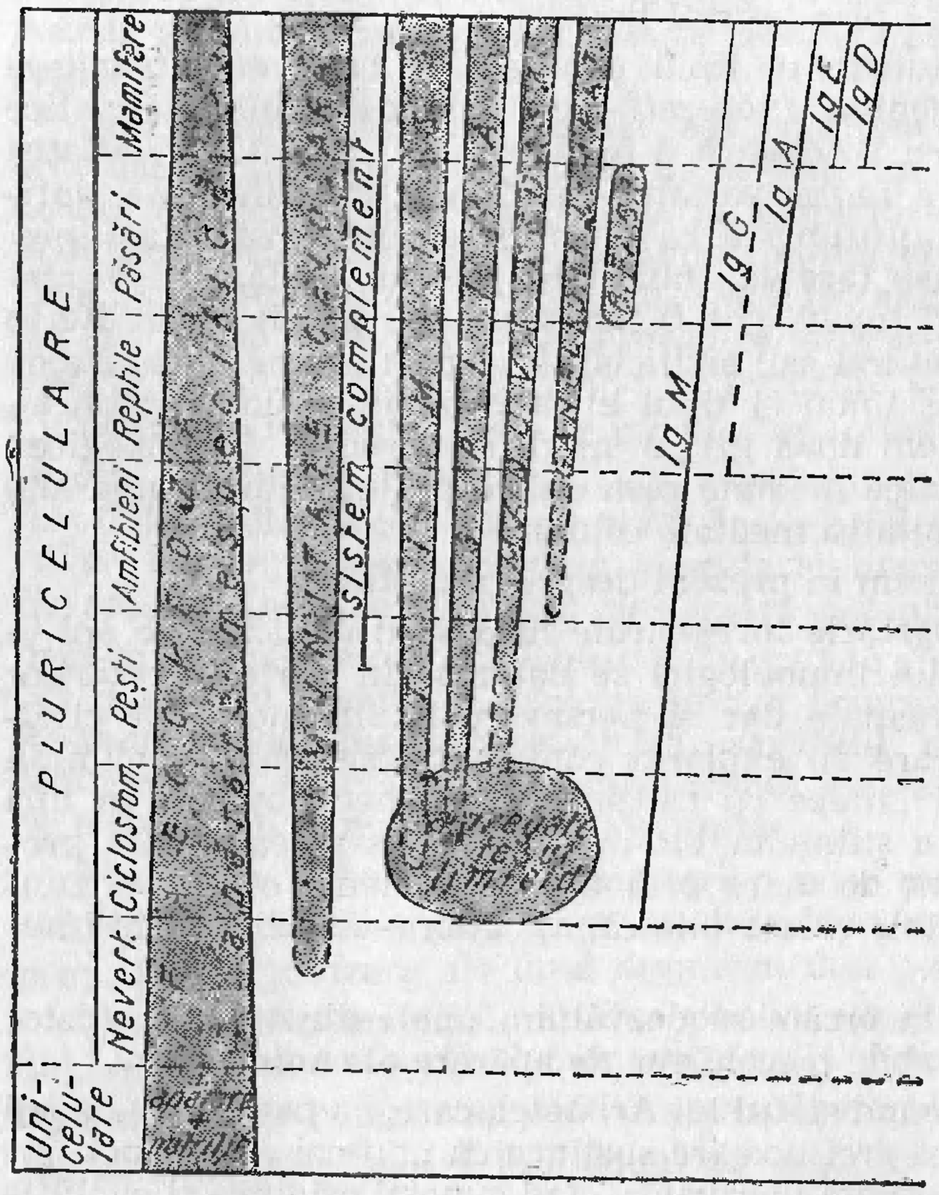

Fig. 1 — Evoluția filogenetică a imunității.

Animalele unicelulare (protozoare) se apără și se hrănesc în același timp ; ele ingeră substanțele organice, microorganismele cu care vin în contact prin membrana lor celulară, tot ceea ce există în afara celulei reprezentînd *non-self*-ul. Discriminarea între *self* și *non-self* se face deci după criterii simple, topografice.

Odată „recunoscute" ca străine, particulele sînt înglobate într-o invaginare a membranei celulare care treptat se rupe și constituie o vacuolă endocitară (fagosom). Aceasta se unește cu un lisosom, organit celular bogat în enzime hidrolazice care vor degrada particulele străine ingerate, obținîndu-se astfel materialul de construcție necesar pentru sintezele proprii ale protozoarului.

Această modalitate de apărare *(fagocitoza)* s-a dovedit utilă și eficace animalelor unicelulare, asigurîndu-le supraviețuirea pe parcursul a sute de milioane de ani, pînă în zilele noastre.

Fenomenul de fagocitoză se regăsește la *organismele pluricelulare,* diferențiindu-se și specializîndu-se tot mai mult. Ea devine calitatea unor celule bine definite, denumite de Metchinikoff „fagocite". La animalele superioare, inclusiv la om, aceste celule asigură așa-zisa apărare antiinfecțioasă nespecifică și realizează în principal funcția de *clearence* a antigenelor străine și al autologului alterat.

Mecanismul de discriminare *self — non-self* se complexează la pluricelulare, devenind cu timpul apanajul unor structuri diferențiate. De exemplu, doi spongieri diferiți genetic (Hildemann a arătat că există mai mult de 900) prezintă reacții similare celor de respingere a grefei (distrucții tisulare la locul de contact), dovedind existența unor structuri moleculare la suprafața mem-

branei celulare capabile atît de recunoașterea *self*-ului de *non-self*, dar și distrugerea selectivă a *non-self*-ului.

Totuși nu s-a dovedit încă la nevertebrate existența unor răspunsuri imune, celulare și umorale, similare celor de la vertebrate.

Cu toate acestea, la unele nevertebrate apropiate evolutiv de vertebrate se remarcă unele celule ce seamănă morfologic, la o examinare sumară cu limfocitele, celulele-cheie ale imunității de la vertebrate. Și, dacă fenomenele de respingere a grefelor observate la protocordate pot fi considerate analoge mecanismelor imune mediate de celulele T de la vertebrate, trebuie să recunoaștem că în privința imunității mediate umoral nici un studiu nu a fost capabil să evidențieze vreo imunoglobulină primordială la nevertebrate, nici măcar la cele mai apropiate evolutiv de vertebrate.

Apariția sistemului limfoid la vertebrate vine să completeze, să asigure o finețe mai mare proceselor de recunoaștere, de distrugere și de eliminare ale agenților străini. Înalta specificitate de reacție și marea capacitate de memorie fac din acesta un sistem de apărare incomparabil mai eficient decît acelea mai vechi (I. Moraru).

Toate vertebratele, de la pești pînă la om, prezintă atît imunitate umorală, mediată prin anticorpi de natură imunoglobulinică, cît și imunitate mediată celular, aceste două forme majore de exprimare a mecanismelor imune fiind expresia funcțională a două categorii de celule, limfocitele B și limfocitele T.

Aceste celule se diferențiază în anumite organe limfoide binecunoscute astăzi : timusul pentru limfocitele T, iar pentru limfocitele B, măduva osoasă, ficatul embrionar, precum și un organ specific păsărilor, bursa Fabricius, situat în apropierea cloacei.

Dar să vedem pe scurt cum a evoluat țesutul limfoid pe scara vertebratelor și cum s-a perfecționat în paralel sistemul de apărare imună.

Cele mai primitive vertebrate cunoscute astăzi, *ciclostomienii*, nu au un țesut limfoid bine structurat, limfocitele fiind grupate în niște agregate limfoide. Ele sînt capabile să producă anticorpi de un singur tip, IgM, rejectează alografele și dezvoltă hipersensibilitatea întîrziată.

Peștii prezintă un timus și o splină bine dezvoltate, dar sînt lipsiți de ganglioni limfatici. Rinichiul anterior (pronefrosul) este implicat și el în ontogenia limfocitelor. Aceste viețuitoare au capacitatea de a dezvolta toate tipurile de răspuns imun în care nu intervine sistemul complement, care apare la peștii osoși (teleosteeni), un grup de pești mai evoluați. Și peștii secretă numai un tip de anticorpi circulanți, tip IgM.

Măduva osoasă hematogenă, care se pare că reprezintă una din condițiile principale de dezvoltare atît a elementelor hematopoietice dar și a sistemului limfoid în genere, apare la *amfibieni*, la aceste vertebrate începînd să se schițeze și ganglionii limfatici.

Limfocitele încep să se deosebească prin anumite proprietăți specifice ale membranei lor celulare : limfocitele care provin din timus (limfocitele T) nu mai au Ig de suprafață, deși larvele de broască au 90% din timocite sIg^+, aceasta fiind cartea de vizită a limfocitelor B, implicate în sinteza anticorpilor. Amfibienii secretă două tipuri de anticorpi circulanți, IgM (19 S) și IgG (7 S). Această clasă de vertebrate este capabilă de asemenea de răspuns imun celular (resping alografele) și manifestă memorie imunologică.

Sistemul imun al *reptilelor* este mai puțin cunoscut, dar se presupune că este la fel, dacă nu chiar mai bine dezvoltat, decît cel al amfibienilor.

Păsările și mamiferele au un țesut limfoid bine dezvoltat, cercetarea intensă și riguroasă a acestuia contribuind la elucidarea morfologiei și funcției limfocitelor T și B.

Păsările sînt primele vertebrate la care a fost stabilită o dicotomie clară a sistemului limfoid, ele avînd două organe limfoide centrale, timusul și bursa Fabricius, care produc limfocitele T, respectiv B. La păsări mai apare o clasă de anticorpi circulanți, IgA.

Mamiferele au un sistem imun și mai complex, dar în același timp și mai bine cunoscut, atît ca substrat morfologic cît și ca exprimare funcțională. Ele dispun de un țesut limfoid abundent, superior organizat, care produce două populații distincte de limfocite și sintetizează o gamă largă de anticorpi, aparținînd celor cinci clase cunoscute (IgM, IgG, IgA, IgD și IgE). Mecanisme imune complicate, implicînd atît procese mediate prin celule cît și procese umorale, avînd o înaltă specificitate, asigură vertebratelor superioare, inclusiv omului, menținerea integralității în condițiile unui mediu de viață ostil. Se realizează astfel apărarea imună anti-infecțioasă, respingerea alo- și xenografelor și supravegherea antitumorală.

Diferențierea țesutului limfoid în cursul evoluției speciilor de animale, prezentată de noi pe scurt, se regăsește în timpul *dezvoltării ontogenetice* a omului.

În dezvoltarea oricărui embrion există o fază inițială de imaturitate imunologică, concretizată prin incapacitatea de a răspunde specific la antigene, și care corespunde etapelor în care țesutul limfoid încă nu s-a dezvoltat sau nu s-a maturizat.

Limfopoieza se desfășoară în primele două luni de viață intrauterină în insulele Pander-Wolff ale sacului vitelin, urmînd apoi să se petreacă în ficatul embrionar (din luna a doua pînă în a șasea — a șaptea lună) și în splină (din luna a treia pînă la naștere). Timusul apare curînd în viața embrionului, în săptămîna a șasea, în timp ce măduva își va începe activitatea hemato (limfo) formatoare ceva mai tîrziu (din luna a patra), iar ganglionii limfatici din luna a cincea.

Constituirea timusului și a măduvei osoase reprezintă o etapă decisivă în evoluția ontogenetică a sistemului imun. În primele insule de medulară osoasă ale embrionului apar celulele-mamă (celulele susă, *stem cells*) nediferențiate, care fixează la nivelul lor întreg potențialul imunologic. Parte din aceste celule stem multipotente, ajunse în nucleul timic, suferă o serie de modificări majore care continuă și în perioada postnatală, ducînd la diferențierea și maturarea timocitelor și a limfocitelor T în absența stimulării antigenice. Aceste celule părăsesc timusul, intrînd în circulația generală. Ajungînd în ariile timo-dependente din organele limfoide periferice, ele sînt apte să reacționeze la stimulare antigenică în cooperare cu macrofagele și limfocitele B.

Limfocitele B se diferențiază în paralel cu limfocitele T, din celule care migrează din sacul vitelin în ficatul embrionar în a opta—a noua săptămînă de gestație. Procesul continuă în măduva osoasă, care va rămîne și după naștere locul de diferențiere și maturare al limfocitelor B, echivalent bursei Fabricius de la păsări.

Dezvoltarea organelor limfoide periferice (splină, ganglioni limfatici, țesutul limfoid anexat tubului digestiv : amigdale, apendice ileo-cecal, plăci Peyer) are loc

concomitent cu popularea lor cu limfocite T și B. Aici se va desfășura etapa a doua a ontogeniei sistemului imun, cea dependentă de stimularea antigenică, aceasta ducînd la proliferarea numai a acelei clone de limfocite în a cărei broască se potrivește cheia agresorului.

Figura 2 ilustrează originea și dezvoltarea ontogenetică a limfocitelor în timpul vieții embrio-fetale și după naștere.

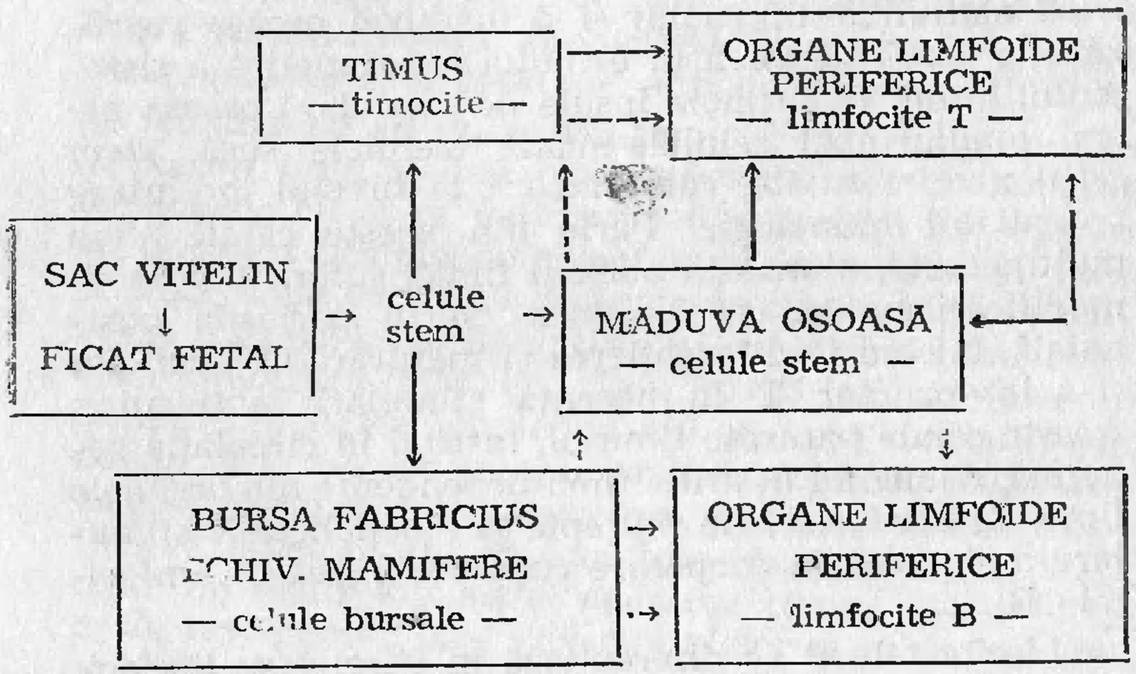

Fig. 2. Originea și dezvoltarea ontogenetică a limfocitelor
———— în timpul vieții embrionare
– – – – – după naștere

LIMFOCITUL, CELULA CHEIE A REACȚIILOR IMUNE

Povestea limfocitului mic

În a doua jumătate a sec. XIX studiile celulelor și țesuturilor umane se bazau numai pe observații la microscop cu descrieri ale aspectului morfologic. Aceasta a fost perioada cînd s-au descris majoritatea celulelor din sînge. Se identifică limfocitul, ca celulă dominantă din limfă, dar prezentă și în sînge, unde ocupă cam un sfert din totalul celulelor albe, al leucocitelor. Între acestea, limfocitul se recunoaște imediat prin dimensiunea sa mai mică și prin nucleul său unic, rotund ce domină toată celula.

După 1920, celulele sînt abordate și prin studierea dezvoltării și funcției lor. Se cercetează țesuturile embrionare, țesuturile de inflamație și începe cultivarea țesuturilor în condiții artificiale. Bazîndu-se pe unele observații din aceste domenii, Maximow susține că lim-

focitul mic are un potențial enorm de dezvoltare în alte tipuri celulare. Contrar părerilor inițiale ce considerau limfocitul ca celulă finită, se descoperă că în anumite situații, din limfocit pot lua naștere alte tipuri celulare. Ca adept al teoriei uniciste a hematopoiezei, Maximow, indică limfocitul ca celulă unică de origine a tuturor celulelor din sînge : leucocite, hematii și trombocite. A fost o idee îndrăzneață pentru acea perioadă, însă dovedită experimental în zilele noastre.

Există un singur tip de limfocit sau mai multe ?

Era logic ca limfocitul să fie considerat la fel cu toate celulele din organism : unui aspect unic morfologic să-i corespundă o capacitate unică funcțională și o potență unică evolutivă. În cazul limfocitului realitatea este alta.

Astfel Nowell lucrînd cu tehnica cultivării leucocitelor sanguine în mediu artificial și stimulîndu-le cu diferite substanțe, observă că limfocitele mici încep să se dividă și după 3 zile devin celule mari cu aspect tînăr, de blaști. Acestea sînt similare cu blaștii ce se dezvoltă în ganglionii limfatici după o infecție locală sau o inoculare de vaccin. Contribuția limfocitelor în lupta antiinfecțioasă a fost dovedită prin nenumărate alte tehnici de observație. Nu demult s-a dovedit că în aceste cazuri limfocitul se transformă în final în celule plasmocitare, producătoare de anticorpi. Acumularea limfocitelor în jurul grefelor ce se resping, ca și în jurul unor tumori, indică un alt aspect funcțional. Tuturor acestor aspecte funcționale, le corespunde o morfologie unică : de limfocit. S-a ivit întrebarea dacă în populația de limfocite există mai multe tipuri cu proprietăți diferite sau este

limfocitul o celulă multifuncțională ? Cercetări experimentale pe animale au contribuit la elucidarea acestor probleme. Îndepărtarea timusului la șoarecii nou-născuți provoacă : 1 scăderea numărului de limfocite ; 2 atrofierea organelor limfatice ; 3 absența reacțiilor antigrefă ; 4 abolirea reacțiilor de hipersensibilitate tardivă și 5 răspuns anticorpic redus sau absent față de antigeni proteici, cu menținerea răspunsului față de antigeni polizaharidici ; 6 apariția de infecții virotice ; 7 cașexie.

Sistemul imun al păsărilor a oferit de asemenea un model de studiu. Astfel ablația organului lor limfatic, denumit bursa Fabricius, a fost urmată de dispariția plasmocitelor din ganglioni și a anticorpilor din sînge. Aceste studii indică în mod indiscutabil existența a două populații de limfocite ce diferă ca origine și funcție. Cele legate de prezența timusului, limfocitele T, au rol în imunitatea mediată celular, iar cele B, bursale, prin secreția de anticorpi, sînt promotorii imunității umorale. Ulterior s-a observat că limfocitele T au proprietatea de a atrage și a lipi pe membrană hematii de oaie, realizînd un aspect ca cel de margaretă sau rozetă. Acesta a devenit testul folosit în mod curent pentru cantificarea limfocitelor T, deosebindu-le de restul limfocitelor care nu au aceeași proprietate. Aceste rezultate au încurajat și canalizat cercetările din ultimii ani spre explorarea proprietăților limfocitare. S-au imaginat o serie de teste, experimente, care au condus ca în prezent să știm că în cadrul celor două mari populații de limfocite, anume T și B, mai există nenumărate subpopulații limfocitare ce diferă ca funcție imună. Ele pot fi identificate datorită unor structuri specifice ale membranei și unor componente intracitoplasmatice. Dar Maximow atribuia limfocitului mic și pluripotență evolutivă și anume de a produce toate celulele sanguine.

Aici problema se complică. Intrăm în domeniul cercetărilor de hematopoieză, care s-au orientat în definirea celulei „mamă"/„de origine"/sau „stem". Studii experimentale pe animal cu refacerea celulelor medulare distruse prin iradiere, citostatice sau hipoxie, arată că celulele de origine ale celulelor sanguine au aspect *limfoid*. Aceleași celule izolate din măduvă, cultivate în mod artificial pe medii semi-solide, cu adaos de factori stimulatori, produc colonii de celule mieloice și monocitare. În alte experiențe, înjectînd celule medulare marcate, în diluții mari la animale iradiate letal, regăsesc marcarea atît pe celulele mieloice cît și limfatice fiice, dovedind originea lor celulară comună. Și în sîngele circulant se găsește un procent foarte mic de celule stem. Ele circulă în mod continuu de la măduvă prin sînge spre organele limfatice sau spre alte segmente medulare. Observate la microscopul optic, ele sînt greu de distins de limfocitele adevărate care au rol imunologic bine precizat. Un ochi bine exersat de microscopist poate distinge pe preparate perfect efectuate, limfocitele adevărate de celulele limfoide cu rol hematopoietic, datorită unor detalii fine structurale. În plus, microscopia electronică identifică organite diferite în cele două tipuri celulare. Cu toate aceste asemănări, deosebirile funcționale fundamentale ne îndreptățesc să considerăm ca entități deosebite sistemul celular de limfocite cu rol în imunitate față de sistemul celular stem de origine.

Ce știm despre limfocit în perioada actuală

Observate la microscopul optic pe preparate din sînge colorate prin metoda de rutină, limfocitele pot fi identificate după dimensiune, în general redusă la 7μ,

mai rar forme mai mari. Nucleul rotund și bine conturat, ocupă cea mai mare parte a celulei. Conține benzi groase și neregulate de cromatină ce acoperă nucleolul. În jurul nucleului se distinge citoplasma ca un inel albastru, de culoarea și transparența cerului senin. De obicei nu au granulații, dar unele limfocite prezintă în mici vacuole, granulații sferoidale.

Pătrunzînd prin microscopie electronică în interiorul structurilor celulare și analizînd biochimic compo-

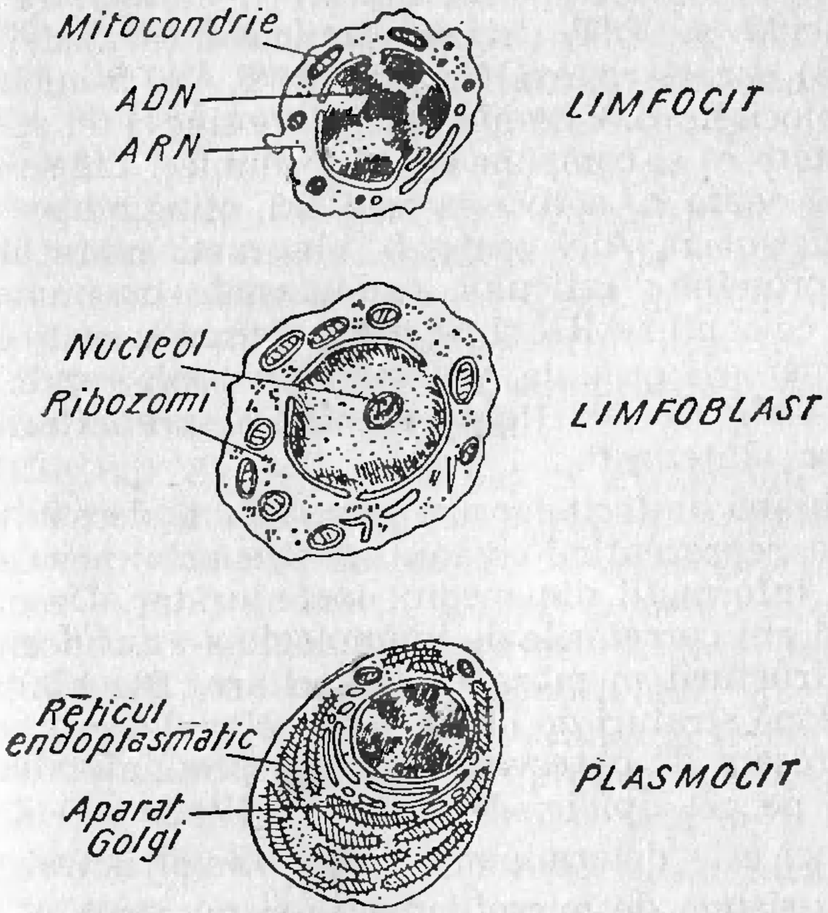

Fig. 3 — Infrastructura celulelor din linia limfoidă.

nentele sale, putem înțelege secvența proceselor de secreție a numeroșilor și diferiților factori cu rol determinant în răspunsul imun (fig. 3). Astfel nucleul, sediul

comenzii genetice, are cromatină-ADN (acid-dezoxiribonucleic) condensată și atît de abundentă încît acoperă nucleolul. Etapa următoare, de transmitere a mesajului nuclear și de realizare a sintezei proteice, este reprezentată de ARN (acid ribonucleic) care domină în raport cu alți componenți biochimici. Astfel glicogenul, evidențiat prin granule specifice colorate, este prezent la o minoritate din populația limfocitară, iar lipidele sînt absente. Dintre enzime, sînt prezente cele mitocondriale, iar în anumite etape ale maturării limfocitare fosfataza acidă și TdT (trifenil-dinucleotid-transferaza-terminală) caracterizează limfocitele T, iar 5-nucleotidaza, limfocitele B. Organitele celulare sînt la fel de slab reprezentate ca și componentele biochimice. Ele se dezvoltă însă odată cu activarea celulară, atingînd un maxim la plasmocit. Aici poate fi observat aparatul de fabricat proteine : reticulul endoplasmic, cu numeroși ribozomi ce conțin ARN și cu spații intracisternale dilatate. Numeroase granule, vezicule și vacuole reprezintă aparatul Golgi cu funcție de eliminare spre exterior a produșilor sintetizați.

Membrana limfocitelor are o importanță deosebită în imunitate, reprezentînd ecranul *specific* prin care celula primește informații din mediul înconjurător. De aceea în ultimii ani cercetările de imunologie s-au concentrat asupra structurii membranei limfocitare. Biochimic se descriu două straturi de lipide și proteine. La celula vie este interesant de observat că stratul proteinic alunecă continuu pe cel lipidic. Această motilitate în planul membranei este determinată de anumite structuri specializate : sistem de microfilamente și microtubuli plasat sub membrană, observați cu microscopul electronic. Imagini deosebit de frumoase, în relief, ale suprafeței limfocitare, le oferă microscopia electronică prin tehnica „de baleiaj". În acest mod pot fi observate microvilozități caracteristice ce diferă de membranele vălurite ale monocitelor. După dimensiunea și repartiția acestor microvili se pot identifica limfocitele B, unde sînt numeroase și limfocitele T cu suprafața mai netedă. Chiar și aceste imagini, ce realizează ordinul de mărime la nivel de Å, sînt grosolane în raport cu variabilitatea structurală a membranei legată de funcția celulară. Cercetările din ultimele decenii definesc noțiunea de *marker de suprafață*, referindu-se la acele structuri biochimice ce caracterizează subpopulațiile limfocitare din punct de vedere funcțional și ca etapă evolutivă. În funcție de tehnica folosită pentru identificarea lor, markerii se împart în două mari categorii : receptori și antigeni de suprafață.

1) Receptorii de suprafață se vizualizează la microscopul optic datorită capacității lor de a capta diferiți liganzi : hematii de la diferite specii de animale, unele învelite cu anumite substanțe, seruri specific direcționate fluorescente etc. Acestea sînt procesele testelor de rozetare sau imunofluorescență.

2) Antigenii de suprafață pot fi evidențiați indirect, datorită reacției lor cu anticorpi corespunzători, cuplați cu diferite substanțe detectoare : fluorescente sau enzimatice. Un progres enorm în acest domeniu a fost realizat de Köhler și Milstein care au imaginat tehnologia de producere a anticorpilor monoclonali. Aceștia sînt produșii finali ai unei singure celule alese pe criteriul proprietăților potrivite scopului propus. Acești anticorpi poartă o specificitate strict dirijată față de o anumită structură antigenică cu compoziție biochimică cunoscută. Tehnologia respectivă poate produce cantități mari de anticorpi, asigurînd astfel reactivi uniformi pentru diferitele laboratoare din lume.

Acești markeri de suprafață sînt studiați cu asiduitate în laboratoarele medicale de specialitate, deoarece, cum le arată numele, ei „marchează" o anumită subpopulație limfocitară, ce are un rol funcțional bine definit în răspunsul imun. Deci pentru a evalua dinamica unui răspuns imun la omul normal și cu atît mai mult la bolnav, este necesară cunoașterea tipului și distribuției acestor subpopulații limfocitare.

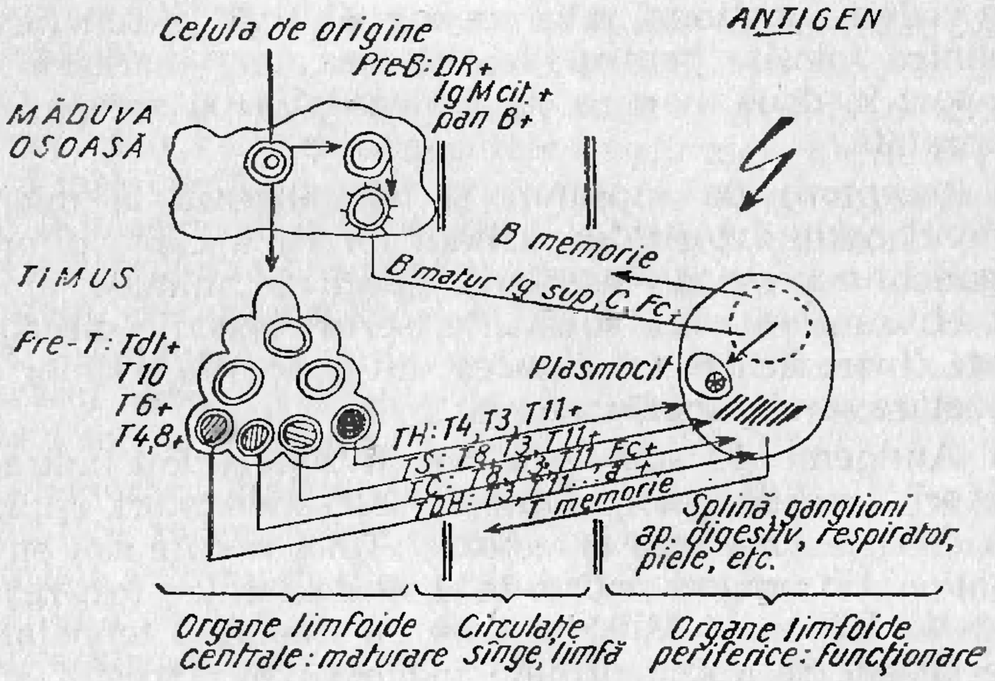

Fig. 4 — Producerea și circulația limfocitelor.

Fiecare limfocit își capătă și își pierde pe rînd markerii suprafeței pe parcursul ciclului lor de viață. Pentru a fi mai expliciți, să urmărim acest ciclu pentru cele două tipuri de limfocit T și B (fig. 4). Ambele tipuri au

în comun : celula de origine și programul de diferențiere și maturare. Sînt deosebite micromediile tisulare care le induc imunocompetența : măduva osoasă pentru limfocitele B, timusul pentru limfocitele T. Diferită este de asemenea și afinitatea lor pentru anumite zone ale țesuturilor limfatice periferice pe care le colonizează. Celula de origine din măduva osoasă, cu morfologie de limfocit mic, este definită mai mult funcțional și mai puțin ca structură a suprafeței. Aici în măduvă, ea generează pe lîngă celelalte linii hematopoietice și celule progenitoare limfopoietice de tip B ce rămîn un timp pe loc și de tip T, care pătrund în timus. Limfocitele *pre-B* tinere, din măduvă, își realizează programul de diferențiere la nivel genic printr-o cascadă de rearanjări, a căror expresie se manifestă prin sinteza de IgM ce apare întîi în citoplasmă, apoi se leagă de membrană. Concomitent sînt sintetizați și alți markeri de diferențiere ce vor dispărea ulterior. Componentul HLA-DR cu rol funcțional în cooperarea celulară, caracterizează li.B pînă la nivelul de plasmocit. Din diviziunile celulelor pre-B iau naștere *li.B de repaus* ce nu se mai înmulțesc, nu sînt încă funcționale. Se recunosc după receptorii pentru hematii de șoarece, pentru complement și după IgM sau IgD de pe membrană. Sînt eliberate din măduvă în circulația sanguină, de unde ajung în ariile „bursodependente" din ganglionii limfatici și splină. Aici ele pîndesc timp de cîteva zile un eventual antigen. Dacă acesta se ivește, li.B intră într-o nouă etapă, de maturare și *activare*. În acest proces este ajutat de macrofage și li.T. Ca urmare a acestei interacțiuni, li.B proliferează în celule fiice marcate de structuri de activare. Diferențierea se continuă prin transformări structurale și morfologice, pînă la etapa finală de celulă *producătoare de anticorpi*, plasmocitul. Acesta pierde markerii

de suprafață, concentrîndu-și efortul intracelular în sinteza și secreția de anticorpi. După 4 zile de activitate maximă, celula moare. Natura este însă economică. O parte din energia cheltuită în lupta față de antigen, se păstrează înmagazinată în li.B de *memorie*. Acestea provin tot din li.B activat, dar ele intră în stare de repaus purtînd informația genetică față de antigen timp îndelungat, chiar pînă la 10 ani. În acest răstimp ele recirculă prin sînge, limfă, organe limfatice, fiind extrem de mobile. La o nouă întîlnire cu același antigen ele își exprimă potențialul lor de apărare cu maximum de competență.

La nivelul timusului, li.*pre-T* parcurg etape similare de diferențiere. Rolul esențial în acest proces îl are micromediul timic cu epiteliul și hormonii secretați *(thymosin, thymopoietin, thymic hormon factor, thymic serum factor)* care imprimă limfocitelor T capacitățile funcționale caracteristice, sub cele două aspecte : 1. recunoașterea antigenelor străine în cadrul histocompatibilității ; 2. stabilește toleranța față de antigenii proprii. Fiecărei etape de diferențiere îi corespund rearanjări genice precise cu sinteze caracteristice, printre care și de markeri. Se succedă astfel pe membrana diferitelor li. T tinere : TdT (trifenil-dinucleotid-transferaza-terminală), T9, T10, T6. La li.T matur, aceștia sînt înlocuiți de markerii definitivi cu rol funcțional : T3, T11, T4, T8. Fiecare din ei deține cîte un rol la fel de important în producerea răspunsului imun. Structura T3 face parte din componența receptorului de recunoaștere specifică a antigenului, fiind prezentă pe toate li.T. Receptorul T11 reprezintă calea alternă de activare ce conduce la creșterea răspunsului imun în absența antigenului. În plus, de acest receptor se leagă hematiile de oaie în testul rozetei E. Markerii T4 și T8 caracterizează

subpopulațiile de li.T cu rol reglator, respectiv inductori sau *helper* și supresori ai răspunsului imun.

După căpătarea imunocompetenței timice, li.T mature de *repaus* se distribuie ariilor timo-dependente din ganglionii limfatici și splină, așteptînd ivirea unui antigen. În lipsa lui, ele dispar în cîteva zile. Dar în prezența lui li.T se *activează*, divizîndu-se și exprimînd noi markeri cum sînt : HLA-DR, receptorul pentru IL-2 etc. Parte din celulele fiice vor forma compartimentul de memorie imună T, cu viață lungă. Altă parte, vor acționa după programul genetic primit ca li.T efectoare fie prin secreție de limfokine, fie prin citotoxicitate.

Una din marile victorii științifice ale anilor '70 a fost recunoașterea faptului că *activitățile funcționale* ale sistemului imun sînt înainte de toate destinate *controlului și modelării răspunsurilor imune*. S-a stabilit cu precizie că există circuite complexe pentru modelarea producției de anticorpi și a răspunsurilor specifice mediate celular. Aceasta implică elaborarea anticorpilor antiidiopatici și chiar anti-anti-idiopatici, a celulelor supresoare specifice, a interacțiunilor între celulele T-T, T-B și macrofage-celule T, ca și influențele reglatoare ale anticorpilor înșiși. Aceste interacțiuni complexe cu rol reglator se înțeleg în termenii funcțiilor subpopulațiilor specifice de limfocite și a moleculelor specifice care exercită astfel de influențe.

Argumente serioase bazate pe studii la șoarece și om indică faptul că influențele reglatoare asupra răspunsului imun, atît pozitive cît și negative, sînt mediate de subpopulații distincte de limfocite T, fiecare fiind programate genetic pentru funcție inductor *(helper)* și respectiv supresor în timpul diferențierii timice :

— *Limfocitele T ajutătoare (helper) (Th)* posedă markeri de suprafață specifici, Lyt-1 la șoarece și T4 la om, avînd sarcina de a ajuta celulele B și T în exer-

citarea acțiunilor lor imunologice (sinteza de anticorpi, respectiv citotoxicitatea mediată celular). Pentru a-și exercita rolul inductor, celulele Th trebuie să reacționeze în prealabil cu celulele accesorii (macrofagele) care prezintă antigenul. Această interacțiune macrofag — limfocit T este MHC-restrictivă, ceea ce a sugerat posibilitatea ca legătura dintre aceste celule să inducă producerea de către macrofag a unor substanțe care declanșează creșterea celulelor Th (Interleukina-1, IL-1). La rîndul lor celulele Th activează specific limfocitele B care se vor diferenția în plasmocite secretoare de anticorpi.

Prezența limfocitelor Th este necesară de asemenea pentru dezvoltarea optimă a citotoxicității celulelor efectoare Tc ($T8^+$), deci intervin în interacțiunea celulelor T-T.

Efectul reglator al subpopulației Th nu se limitează numai la celulele limfoide. El s-ar manifesta și în diferențierea hematopoietică, factori *helper* produși de limfocitele T stimulate antigenic putînd modula producerea celulelor stem eritroide *in vitro*.

— *Limfocitele T supresoare (Ts)* aparțin unei subpopulații distincte de limfocite, care poartă antigenul Lyt-2,3 la șoarece, respectiv T8 la om. Funcția acestora de stăvilire a expansiunii clonale a celulelor T și B, consecutivă stimulării antigenice, este deosebit de importantă în menținerea răspunsului imun în cadrul anumitor limite precum și în supresia răspunsului față de componentele autologului. Celulele Ts își exercită acțiunea fie asupra celulelor inductoare fie direct asupra populațiilor efectoare, manifestîndu-se atît în răspunsul mediat umoral cît și în cel cu mediație celulară. S-a arătat astfel că celulele ajutătoare incubate cu celule supresoare sînt incapabile să inducă sinteza de anti-

corpi față de hematii de oaie de către limfocitele B. De asemenea, o subpopulație de limfocite Ts a suprimat proliferarea celulelor T ca și dezvoltarea citotoxicității celulelor Tc față de celule străine.

O problemă interesantă privind reglarea sintezei imunoglobulinelor de către limfocitele T este aceea dacă activitatea supresoare este generată de o subpopulație de celule T care acționează singură sau dacă este necesară interacțiunea între două subpopulații diferite de celule T. Experiențe efectuate pe șoareci în mai multe laboratoare din lume par să indice că o subpopulație de celule precursoare ale celulelor supresoare (pro-supresoare) trebuie să interacționeze cu o altă subpopulație de celule T, activatoare ale supresiei (supresor-amplificator), înainte de generarea celulelor Ts efectoare. Aceste date ilustrează complexitatea fantastică a interacțiunilor care se stabilesc între diferitele componente ale sistemului imun.

Funcțiile efectoare ale limfocitelor. Pătrunderea în organism a unui anumit antigen este recepționată de antenele specifice pentru acel antigen dat, situate pe o anumită celulă unipotentă, care va prolifera și se va diferenția spre celulele efectoare.

— *Funcția efectoare a limfocitelor implicate în imunitatea umorală (limfocite B)*. Funcția cheie a limfocitelor B este producerea anticorpilor față de diverse antigene.

Celulele B care întîlnesc antigenul complementar receptorilor imunoglobulinici de pe suprafața membranei lor celulare și care primesc ajutorul celulelor Th pot suferi o serie de modificări structurale, culminînd cu diferențierea lor în *plasmocite* mature care secretă mii de molecule de anticorpi pe secundă înainte de moartea lor. Alternativ, celula B activată se poate di-

vide de un număr limitat de ori înainte ca progenitorii ei să intre în compartimentul celulelor de memorie.

Anticorpii au fost definiți ca substanțe specifice formate de organism ca răspuns la o stimulare antigenică. Toți aparțin unei clase de proteine serice — globuline, dar nu toate globulinele sînt anticorpi ! Anticorpii se mai numesc imunoglobuline sau gamma-globuline.

Toate imunoglobulinele au același tip de unitate structurală sau monomerică, compusă din două lanțuri polipeptidice grele (lanțuri H = *heavy*) și două lanțuri ușoare (L = *light*) (fig. 5). Lanțurile sînt legate prin

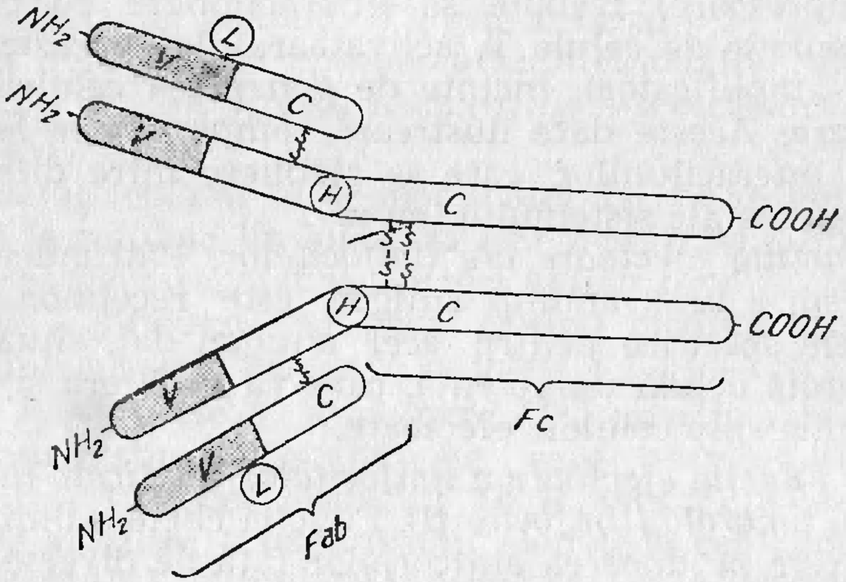

Fig. 5 — Modelul primar pentru structura IgG

punți disulfidice. Lanțurile grele sînt specifice fiecărei clase de Ig și conțin o secvență unică de aminoacizi care le caracterizează. Există 5 tipuri de lanțuri grele : se desemnează prin literele grecești γ, α, δ, μ, ε, care corespund respectiv IgG, IgA, IgD, IgM, IgE. Toți indivizii normali posedă aceste imunoglobuline în can-

tități variabile. Lanțurile ușoare sînt de două tipuri, κ și λ. În fiecare moleculă de Ig lanțurile ușoare sînt totdeauna de același tip, ca și cele grele.

Părțile terminale ale lanțurilor grele și ușoare ale fiecărui monomer prezintă multe variații, în timp ce celelalte părți ale lanțurilor au secvențe de aminoacizi relativ constante. Ultimele determină clasa sau rolul biologic al unei Ig, în timp ce regiunea variabilă sau locul de fixare al antigenului determină specificitatea sa.

Fiecare clasă de Ig are o structură și o funcție particulară. Să vedem caracteristicile imunoglobulinelor umane. IgG reprezintă aproape 70% din Ig prezente în serul normal. Este forma cea mai comună a anticorpilor și este singura Ig care protejează nou-născutul, ea trecînd prin placentă de la mamă la făt (transfer transplacentar) și găsindu-se și în colostru.

IgM se numește așa pentru că este o macroglobulină, de vreo 5 ori mai mare decît IgG și este pentamerică. Pe de altă parte mai există o peptidă suplimentară numită lanț J care este fixată pe lanțurile grele și care ar stabiliza IgM. Reprezintă aproximativ 6% din Ig totale și constituie de obicei primul anticorp care apare în urma unei prime stimulări antigenice.

IgA este prezentă în ser sub formă monomerică sau polimerică și constituie circa 10% din Ig totale. Ea se mai găsește în aproape toate secrețiile organismului : lacrimi, salivă, spermă, urină și colostru. Prezența sa în secrețiii și colostru ajută la protejarea suprafețelor exterioare ale corpului și, de asemenea, a nou-născutului. IgA este prezentă și în mucusul căilor respiratorii și digestive. IgA exocrine sînt structurate mai ales sub formă de dimeri, mai rar sub formă de trimeri. Ca și IgM, IgA exocrin posedă și un lanț J. În plus există așa-numita piesă secretorie, o polipeptidă care

unește cei doi monomeri de IgA. Prezența acesteia prelungește retenția și acțiunea biologică a IgA secretoare pe suprafața mucoaselor. Ea este secretată în alte celule decît cele limfoide și facilitează transferul extern al IgA secretoare. Din cauza prezenței sale strategice în diverse secreții, IgA reprezintă unul din mijloacele principale de apărare față de bacterii și virusuri.

IgD a fost observată prima dată la unii pacienți cu mielom multiplu, acești indivizi secretînd cantități crescute de IgD. Fără aceste experimente ale naturii nu s-ar fi decelat probabil niciodată această clasă de anticorpi circulanți, care reprezintă în mod normal mai puțin de 1% din cantitatea totală de Ig. Alături de IgM, IgD constituie receptorul predominant pentru antigen pe limfocitele B umane și murine, avînd un rol important în recunoașterea antigenului și inițierea răspunsului imun. Concentrația IgD crește semnificativ în serul femeilor gravide, dar numai în timpul travaliului.

IgE, deși se găsește în ser în cantități extrem de scăzute, are o mare importanță clinică. Se asociază cu fenomenele alergice și de hipersensibilitate imediată De asemenea crește în infecții intestinale helmintice, avînd probabil un rol protector față de aceste parazitoze. Această ipoteză a fost formulată după ce s-a observat că oamenii care trăiesc la tropice au de 20 de ori mai mult IgE decît cei care trăiesc în zone cu climat mai rece.

Am trecut în revistă clasele de imunoglobuline care sînt secretate de plasmocite ca răspuns la o stimulare antigenică. Sinteza lor reprezintă un proces extrem de complex, care este determinat genetic, în prezent existînd mai multe teorii care încearcă să explice marea diversitate a anticorpilor care pot fi produși de un or-

ganism. Le vom prezenta pe larg în capitolul „Sisteme teoretice".

— *Funcția efectoare a limfocitelor T* — intervine în răspunsul imun celular care are ca scop înlăturarea din organism a unor antigene macromoleculare și celulare, agenți biologici facultativ intracelulari care nu pot fi distruși de anticorpii umorali (virusuri, unele bacterii Gram-negative, ca Brucella, Mycobacterium tuberculosis, bacilul leprei etc., protozoare, fungi), celule îmbătrînite sau alterate, grefate sau tumorale. Antigenul, liber sau prelucrat de macrofage, este recunoscut de limfocitele T care se activează și se transformă blastic, rezultînd, după cîteva diviziuni, limfocite mici sensibilizate specific față de antigenul respectiv. Aceste celule mici, sensibilizate, sînt celulele T efectoare. Unele dintre ele, purtătoare ale memoriei imunologice, persistă mult timp în țesutul limfoid, gata oricînd să reînceapă proliferarea, dacă are loc o nouă reîntîlnire cu antigenul sensibilizant.

Limfocitele T efectoare cuprind două subpopulații distincte de limfocite, limfocitele T citotoxice (Tc) și limfocitele implicate în hipersensibilitatea întîrziată (T_D). Primele poartă același marker de suprafață ca și limfocitul Ts (T8 la om și Lyt-2,3 la șoarece). Efectul citotoxic al celulelor T asupra unor celule-țintă adecvate este specific și necesită un contact intim între efector și țintă, primul „injectînd" direct în țintă substanțe cu efect citotoxic. După ce a ucis o celulă-țintă, celula efectoare se poate desprinde și poate omorî o altă țintă.

Spre deosebire de celulele Tc, limfocitele T_D își exercită funcția efectoare prin intermediul unor mediatori solubili activi (limfokine) care atrag și activează în special macrofagele, care vor participa ca efectori în reacția de hipersensibilitate întîrziată. Vizualizarea reac-

ției dintre antigen și limfocitele T_D se face *in vivo* prin urmărirea manifestărilor la nivelul țesuturilor (de obicei a pielii) și *in vitro*, prin urmărirea efectului limfokinelor eliberate asupra unor celule indicatoare (de exemplu, inhibarea migrației macrofagelor).

Studiul limfocitului în eprubetă

Limfocitul izolat din organismul viu, de obicei din sînge, și introdus în eprubete ce conțin soluții adecvate, ne poate oferi multe informații asupra imunității individului respectiv. Dintre toate celulele organismului, singur limfocitul se studiază prin mai multe tehnici. De ce? Deoarece el deține un rol determinant în realizarea răspunsului imun, iar pe de altă parte sînt mai multe subpopulații de limfocite ce diferă mai ales prin funcție.

Prima manevră și cea mai simplă, ce se efectuează în orice laborator, este numărarea la microscop întîi a globulelor albe din sînge, evaluîndu-se dintre acestea limfocitele. Adultul normal trebuie să aibă între 5 000—7 500 globule albe pe mm^3, cu 22—34% limfocite, cu alte cuvinte în medie 1 500 limfocite pe mm^3 de sînge. Orice deviere în plus sau în minus de la aceste cifre indică o reacție anormală, o boală.

Mergînd mai în amănunțime, în cadrul populației de celule limfocitare se pot distinge diferite subpopulații. Fiecare din acestea deține cîte o funcție specifică ce merge mînă în mînă cu anumite structuri ale membranei de care am amintit, așa-numiții markeri celulari. Cercetîndu-i pe aceștia putem deduce care este raportul dintre subpopulațiile limfocitare funcționale, ce oglindesc tipul, amploarea și direcția răspunsului imun din organismul respectiv la momentul testat. Importanța acestui răspuns imun se interpretează împreună cu medicul clinician pentru evaluarea stării de boală.

Să revenim la limfocitul introdus în eprubetă, numărat global. Vrem apoi să aflăm cîte din această cantitate sînt limfocite T și cîte sînt B. Cum am mai amintit, fiecare are proprietăți care le caracterizează. De exemplu, limfocitele T pot lipi în jurul lor hematii de oaie, iar limfocitele B tinere lipesc hematii de șoarece. La microscop se numără aceste îmbinări celulare cu aspect de floare sau *rozetă*, diferențiindu-se de limfocitele libere (fig. 6).

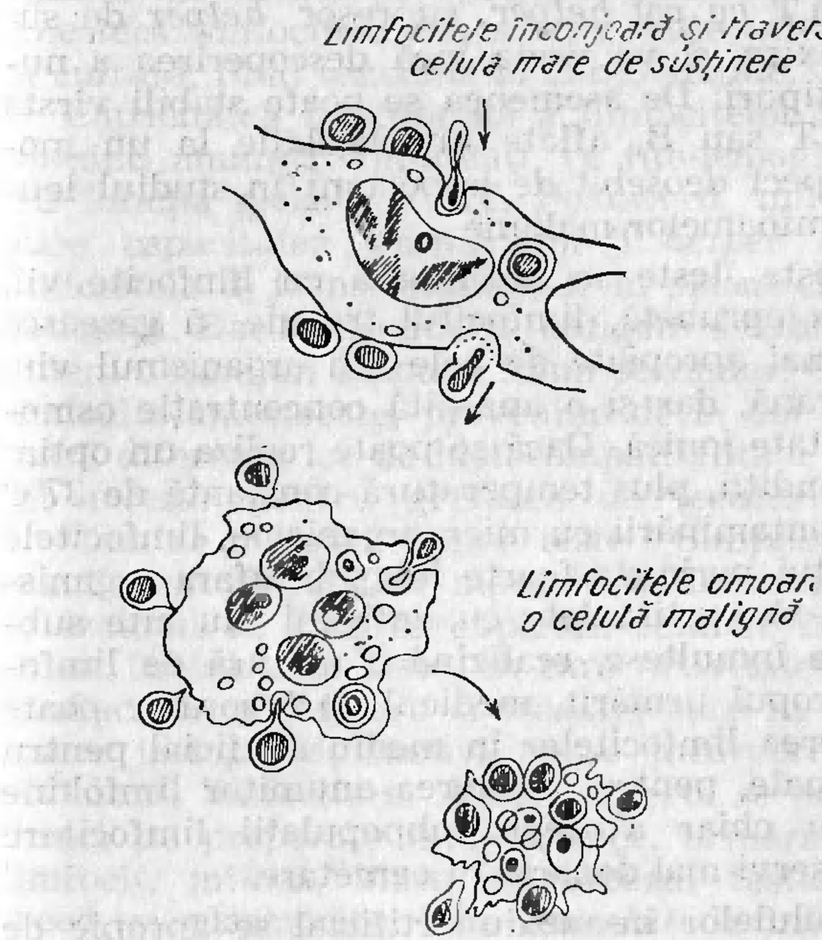

Fig. 6 — Interrelații celulare observate în culturi și țesuturi.

Folosind anumite seruri fluorescente, se pot pune în evidență limfocitele B, ce au în structura membranei componentă imunoglobulinică. Se pot observa deci și număra la microscopul cu lumină de ultraviolete, apărînd ca inele luminate în verde sau roșu.

Se cunosc încă nenumărate teste ce pun în evidență diferiți markeri ai membranei celulare. Așa sînt testele cu anticorpi monoclonali care sînt direcționați țintit față de anumite structuri aflate pe subpopulații încă mai restrînse limfocitare. În prezent se pot identifica și cantifica li.T cu rol *helper*, supresor, *helper* de supresie, citotoxice, și va urma încă descoperirea a numeroase subtipuri. De asemenea se poate stabili vîrsta diferitelor li.T sau B, aflate în circulație la un moment dat, aspect deosebit de important în studiul leucemiilor și limfoamelor maligne.

Toate aceste teste se efectuează cu limfocite vii. Deci, în acea eprubetă, limfocitul trebuie să găsească condiții cît mai apropiate de cele din organismul viu, nu numai hrană, dar și o anumită concentrație osmotică și stabilitate ionică. Dacă se poate realiza un optim din aceste condiții, plus temperatură constantă de 37°C și evitarea contaminării cu microorganisme, limfocitele pot supraviețui perioade foarte lungi în afara organismului. Dacă sînt stimulate cu antigeni sau alte substanțe, ele se înmulțesc, realizînd o cultură de limfocite. După scopul urmărit, medicul de laborator poate utiliza creșterea limfocitelor în mediu artificial pentru teste funcționale, pentru obținerea anumitor limfokine secretate sau chiar a unor subpopulații limfocitare pure, ce vor servi mai departe în cercetare.

Studiul celulelor în mediu artificial se apropie de domeniul fantasticului. Aici, fiecare celulă izolată din organism capătă individualitate proprie. Fiind elibe-

rate de numeroșii factori reglatori din organism, ele devin independente și își manifestă capacitatea funcțională cu intensitate maximă. Este ca și cum am asista la un film rulat cu încetinitorul, în care putem distinge clar aspectele diferite. Tehnicile de laborator au ajuns la asemenea performanțe încît se poate reproduce în „eprubetă" cîte un proces funcțional din complexitatea unui răspuns imun. Putem evalua mărimea răspunsului celulelor *natural killer*, a capacității de ucidere a limfocitelor T sensibilizate în prealabil sau ajutate de anticorpi specifici, prin teste în care se amestecă limfocitele de testat cu alte celule menținute în cultură, fiind sensibile la citotoxicitate.

Capacitatea funcțională a limfocitelor se determină folosind anumiți stimulenți, ca fitohemaglutinina pentru funcția globală a li.T, Pokeweed mitogen ce induce capacitatea limfocitelor T *helper* de a matura limfocitele B, transformîndu-le în plasmocite ce secretă anticorpi. Dacă introducem antigeni solubili în cultură, putem obține un răspuns imun secundar. O cultură din limfocite amestecate, provenind de la doi indivizi, măsoară diferența lor de histocompatibilitate, aspect absolut necesar pentru grefarea de țesuturi sau organe.

Cum se măsoară aceste teste ? Simplist explicat, în cazul citotoxicității, se măsoară radioactivitatea inclusă în izotopii cu care se cuplează celulele ce vor fi distruse. În celelalte teste, în care activitatea funcțională conduce la proliferare și transformare în blaști, se folosesc izotopi radioactivi ce se încorporează înaintea diviziunii limfocitare. Aceste aspecte se pot observa și direct pe preparate microscopice, urmărind secvența : limfocit, mitoză, blast, iar în cazul testului cu Pokeweed, și plasmocite. Este deosebit de interesant, cum în numai 3—4 zile de cultivare, limfocitele izolate și stimulate se pot transforma în celule complet diferite :

mari, cu nuclee cu cromatină fină și nucleoli numeroși, citoplasmă albastru intens cu vacuole. Aceste celule, imunoblaști, apar în orice ganglion regional după o infecție locală sau o inoculare cu vaccin. La o observare atentă se poate urmări la microscop stabilirea de contacte între diferitele populații de celule : monocite sau granulocite, cu limfocite și cu blaști. Limfocitele se așază în jurul celulei fagocitare cu care se unesc prin prelungiri citoplasmatice, iar pe de altă parte se unesc cu blaști. Asistăm probabil la reprezentarea morfologică a schimbului de informație pentru activarea celulară. Acestea sînt procese reale care se produc și în organismul viu, dar pe care noi nu le putem surprinde pe cupele histologice cu țesut fixat. Un aspect mai surprinzător este pătrunderea activă a limfocitelor în interiorul unor celule mai mari, ca fibroblaste de cultură sau celule maligne. Urmărite la microscop cîteva ore, cu cameră caldă, în stare vie, se poate vedea cum limfocitul intră în celulă, o traversează și iese în mediul de cultură. Probabil că acest fenomen reprezintă proprietatea pe care o au limfocitele de a traversa celulele epiteliale din tubul digestiv, tractul respirator sau vase, în organismul viu. În contact cu celulele maligne în cultură limfocitele produc uropod ascuțit, organ de cercetare sau de luptă, și trec la atac înconjurînd celula malignă și căutînd să o pătrundă. Atacul poate fi eficient sau ineficient, deoarece și celula malignă produce prelungiri citoplasmatice amenințătoare.

În laborator, imaginația umană perfecționează continuu tehnicile de cercetare „în eprubetă", care fiind corect interpretate pot lămuri parte din misterele funcționale ale organismului.

Limfocitele nu sînt singure pe cîmpul de luptă

Așa cum am văzut, limfocitele formează o armată numeroasă, bine instruită și echipată pentru a lupta eficient pentru apărarea organismului. Dar ele au nevoie și de ajutorul altor celule, al altor factori. Este vorba de sistemul celulelor fagocitare precum și de un grup de proteine serice care formează sistemul complement.

Celulele fagocitare și rolul lor în rezistența organismului la infecții au fost descrise prima dată de Metchnikoff în 1882, subiectul fiind părăsit de cercetători prin 1920. Interesul pentru fagocite s-a redeșteptat în ultima vreme, astfel că la ora actuală se știe că acestea intervin în numeroase și complexe mecanisme imunologice.

Sistemul celulelor fagocitare cuprinde două tipuri de celule : microfagele, reprezentate de granulocite, în special cele neutrofile, și macrofagele, expresia funcțională a monocitelor.

— Granulocitele formează prima linie de apărare a gazdei. Ele sînt produse în măduva osoasă prin hematopoiezã, fiind eliberate în circulație în cantitate mare. Cele aproximativ 6×10^{11} granulocite prezente în sînge își îndeplinesc funcțiile după ce părăsesc circulația și pătrund în regiunile inflamate. Ele nu trăiesc decît cîteva zile : aproape 10^{11} granulocite pe zi sînt eliminate din sînge și sînt înlocuite cu altele provenite din măduva osoasă. Granulocitele au o morfologie caracteristică : prezintă nuclei polilobați și granulații evidente în citoplasmă. În funcție de tinctorialitatea acestor granulații, granulocitele cuprind trei populații de celule cu funcții distincte. Granulocitele neutrofile sînt

celule care migrează rapid, întîlnindu-se de regulă în inflamațiile acute, apariția lor în aceste focare inflamatoare fiind condiționată de factorii chemotactici. Membrana lor celulară este înzestrată cu „antene" specializate în prinderea anticorpilor opsonici. Aceste antene nu sînt altceva decît receptorii pentru fragmentul Fc al Ig precum și receptorii pentru complement, grație cărora este facilitată fagocitoza complexelor antigen-anticorp. Granulocitele eozinofile, bogate în granulații roșii-portocalii asemănătoare icrelor de Manciuria, intervin în fagocitarea complexelor antigen-anticorp dar sînt implicate mai ales în inflamațiile antiparazitare. În sfîrșit, granulocitele bazofile prezintă în sîngele periferic, elemente rotunde, cu nucleu bilobat, precum și forme alungite cu nucleu rotund sau oval, numite mastocite, care se găsesc în țesuturi. Granulațiile lor conțin enzime hidrolitice, heparină, histamină. Eliberarea histaminei are efecte farmacodinamice asupra mușchilor netezi ai arteriolelor, provocînd vasodilatarea lor precum și mărirea permeabilității vasculare. Degranularea masivă a acestor celule este facilitată de prezența receptorilor Fc pentru IgE care captează anticorpii reaginici (IgE), fenomen care apare în reacțiile alergice de tip atopic și anafilactic.

— Sistemul celulelor fagocitare mononucleare sau sistemul macrofagic este format din monocitele circulante și o varietate largă de histiocite tisulare plasate strategic în tot organismul. Ele se găsesc astfel în sinusurile din măduva osoasă, în sinusurile și parenchimul ganglionilor limfatici și al splinei, în ficat (celulele Kupffer), în plămîni, în cavitatea pleurală, peritoneală și articulară, în sistemul nervos și plexul coroid, în țesutul subcutan și în general în țesutul conjunctiv. Parte din această varietate de celule derivă din monocitele circulante care, ajungînd în țesuturi, își modelează forma în funcție de condițiile tisulare locale și de solicitarea funcțională. Durata de viață a monocitelor sanguine este de 30—72 ore, după care părăsesc vasele sanguine prin diapedeză și, ajungînd în țesuturi, devin histiocite. Acestea au o durată de viață mai mare de 75 de zile, se divid foarte rar și numai în condiții de fagocitoză și de stimulare imună intensă.

Se recunosc astăzi mai multe funcții importante ale fagocitelor mononucleare intricate în apărarea organismului. Ele sînt „măturătorii" care debarasează organismul de celulele îmbătrînite, moarte sau lezate, în special eritrocite, leucocite și trombocite senescente, dar și de alte țesuturi autologe alterate, fiind deci capabile să discrimineze autologul normal de cel lezat, pe care-l recunosc prin anticorpi specifici. De asemenea asigură îndepărtarea prin fagocitoză a unor grupe de paraziți intracelulari facultativi sau obligatorii (virusuri, bacterii, ciuperci și alți paraziți) (funcție antixenică). Fagocitoza necesită un contact intim între suprafața fagocitului și particula ce va fi fagocitată, fixarea fiind facilitată de anumite substanțe serice numite opsonine (anticorpi facilitanți ai fagocitozei). Fagocitele au o afinitate deosebită față de microorganismele acoperite de anticorpi. Dacă pe suprafața agentului patogen se găsește și complement, atunci receptorii pentru complement de pe fagocite vor asigura forțe fixatoare suplimentare.

Particulele care vor fi fagocitate sînt ingurgitate printr-o invaginare a membranei citoplasmatice, formîndu-se o vacuolă numită fagozom. Etapele ulterioare ale fagocitozei depind de activitatea lizozomilor. Aceștia fuzionează cu fagozomul pentru a forma fagolizozomul. Enzimele intră în acțiune și antrenează moartea și digestia microbului. Moartea agentului patogen sur-

vine în cîteva minute, degradarea completă putînd dura cîteva ore. Figura 7 schematizează procesul fagocitozei.

Macrofagele au funcții imune esențiale. În faza inductivă a răspunsului imun ele participă la recunoaș-

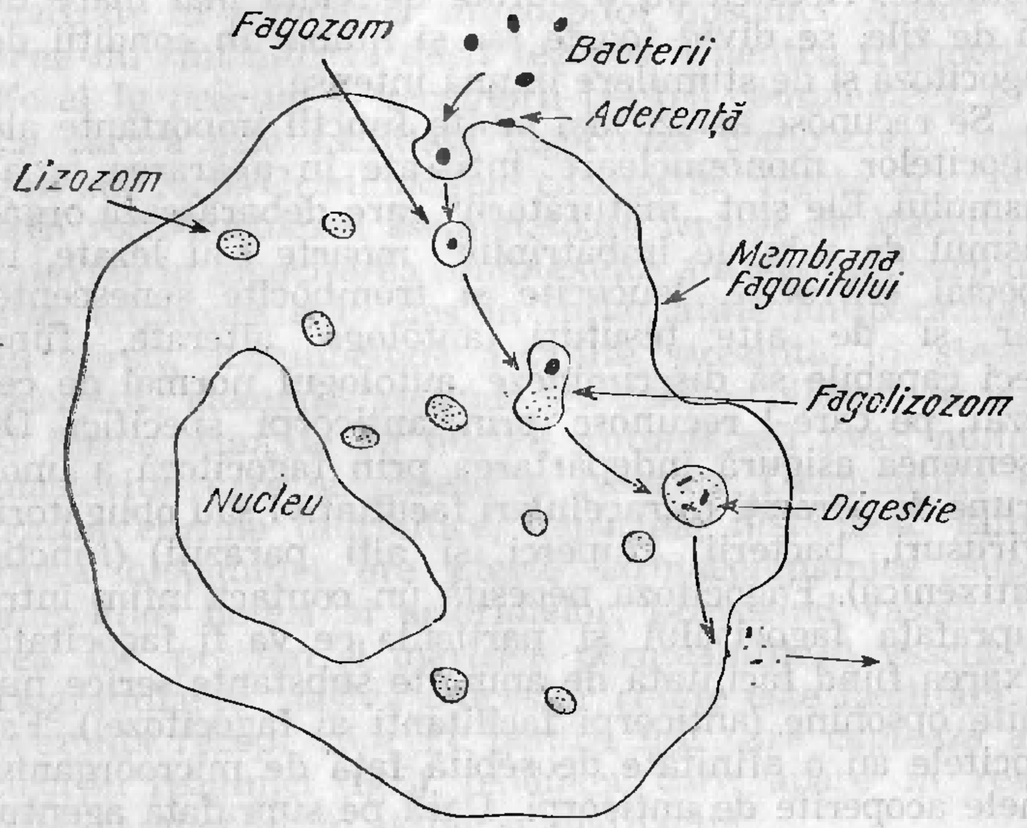

Fig. 7 — Fagocitoza.

terea „precoce“ a antigenului, prelucrarea sau conservarea lui pentru perioade lungi de timp și transmiterea informației antigenice celulelor imuno-competente pentru stimularea producției de anticorpi. În acest proces complex macrofagele au rolul de a lega antigenele, proces care depinde de tipul de antigen, de natura sa biochimică, solubilitate, mărime, prezența sau absența agregabilității, capacitatea de atașare față de anticorpi sau de aderare la receptorii macrofagului. După cap-

tarea antigenului de către macrofag, urmează prelucrarea acestuia, ceea ce duce la schimbarea configurației sale. Astfel unele antigene devin puternic imunogene. Antigenele legate de membrana macrofagului pot stimula într-un grad mai mare răspunsul imun decît un antigen solubil. Stimularea implică în primul rînd interacțiunea dintre antigen și macrofag și apoi contactul cu limfocitul Ts. În cooperarea celulă-celulă prezentarea antigenului de către macrofag limfocitelor T necesită identitatea în sistemul major de histocompatibilitate. Limfocitul T poate fi activat numai în condițiile recunoașterii antigenului străin asociat produselor genelor MHC de pe celula accesorie (macrofag). Deci este nevoie de două semnale : unul de la antigen și al doilea de la celulele accesorii. Acest al doilea semnal poate fi transmis direct de către macrofage sau indirect, prin intermediul interleukinei-1 (IL-1), o monokină secretată de macrofag după captarea antigenului.

Macrofagele pot participa direct în procesele de citotoxicitate mediată celular, ele putînd fi „activate“ în urma recepționării unui factor solubil eliberat de limfocitul T sensibilizat prin recunoașterea unui antigen, fie „armate“ de un alt factor eliberat de celulele T, SMAF (*specific macrophage arming factor*, factor de armare specific al macrofagelor), un factor specific care conferă macrofagului abilitatea de a distruge selectiv celulele tumorale. Acest SMAF pare să fie receptorul pentru antigen care se desprinde de pe celula T expusă la antigen și care se atașează prin citofilie de suprafața macrofagelor, conferindu-le specificitate în efectul lor citotoxic (fig. 8).

Sistemul complement. La sfîrșitul secolului trecut J. Bordet a pus în evidență în serul normal și/sau imun niște substanțe care, în prezența unor anticorpi

specifici pentru o celulă, pot determina citoliza acesteia. El a botezat aceste substanțe cu numele de „alexine". Ulterior Ehrlich a introdus termenul de „com-

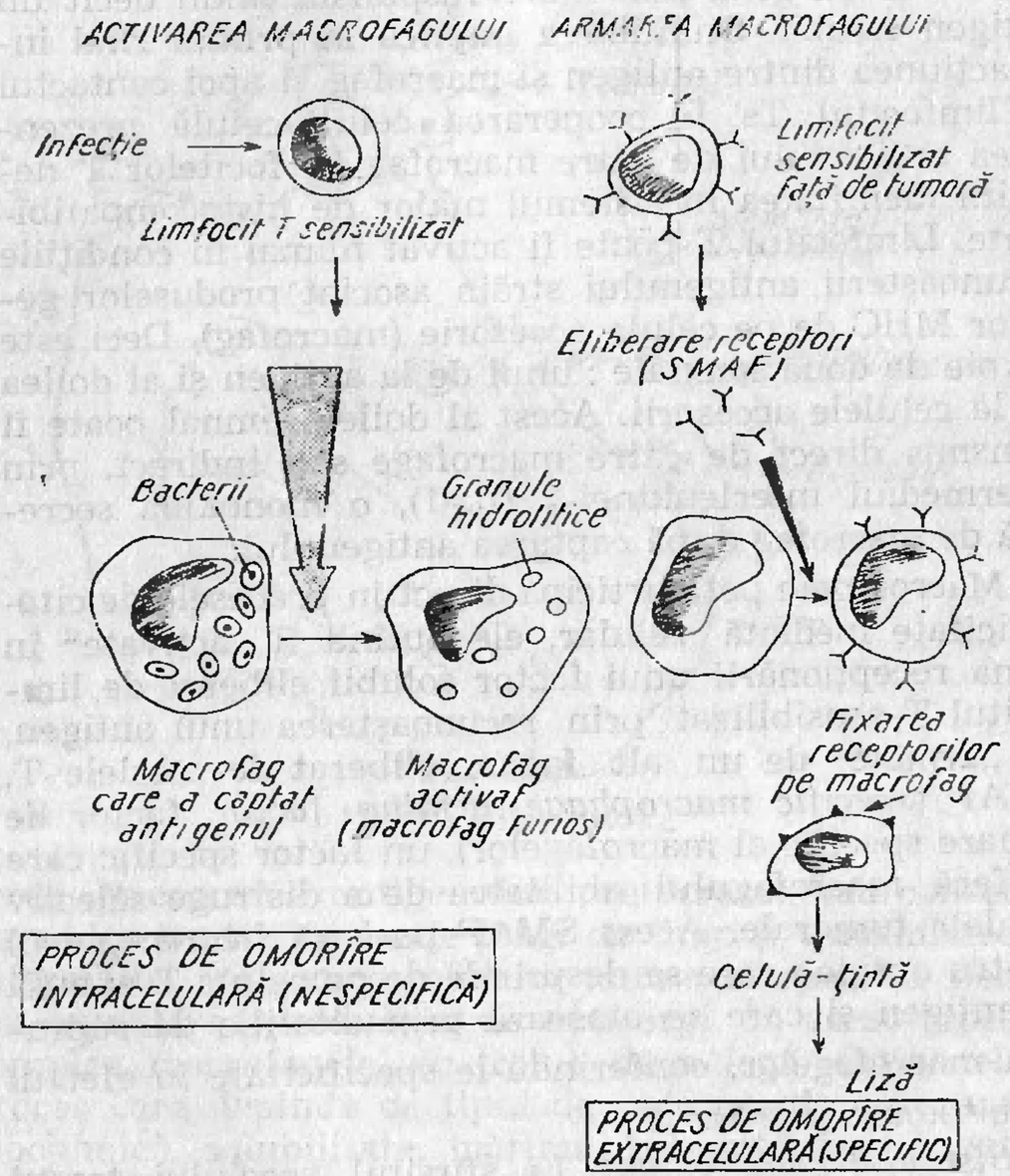

Fig. 8 — Macrofagele și procesul de citotoxicitate: „Armele" sînt oferite de limfocitele T (după Moraru).

plement", pentru a sublinia efectul complementar al acestor proteine serice asupra unor reacții imune care pun în joc anticorpii, ca reacțiile de opsonizare, chemotaxie și liză celulară.

Complementul este un sistem enzimatic complex, care conține un număr mare, încă incomplet determinat, de componente globulinice serice, dintre care majoritatea sînt termosensibile la 56°C.

Pentru a participa la reacțiile imune, complementul trebuie în prealabil „activat", proces care rezultă dintr-o serie de reacții „în cascadă". Activarea complementului poate fi făcută fie prin complexele antigen-anticorp (calea clasică de activare) fie pe o cale mai scurtă, alternativă, inițiată de polizaharide de tip inulinic, endotoxinele bacteriilor Gram-negative, zimozanul și veninul de cobră, dar și complexe antigen-anticorp care nu activează calea clasică sau IgA umană agregată.

Rezultatul activării sistemului complement este deteriorarea membranei celulei-țintă și inițierea citolizei, frecvente în procesele de bacterioliză, hemoliză, liză prin macrofage activate care posedă receptori pentru Fc.

Complementul are o acțiune multiplă asupra leucocitelor: chemotactică, opsonizantă, de aderență, eliberatoare de enzime lizozomale etc., toate aceste fenomene ducînd la lanțul de procese implicate în procesul inflamator.

Am reprezentat în figura 9 activitățile biologice ce rezultă din activarea complementului.

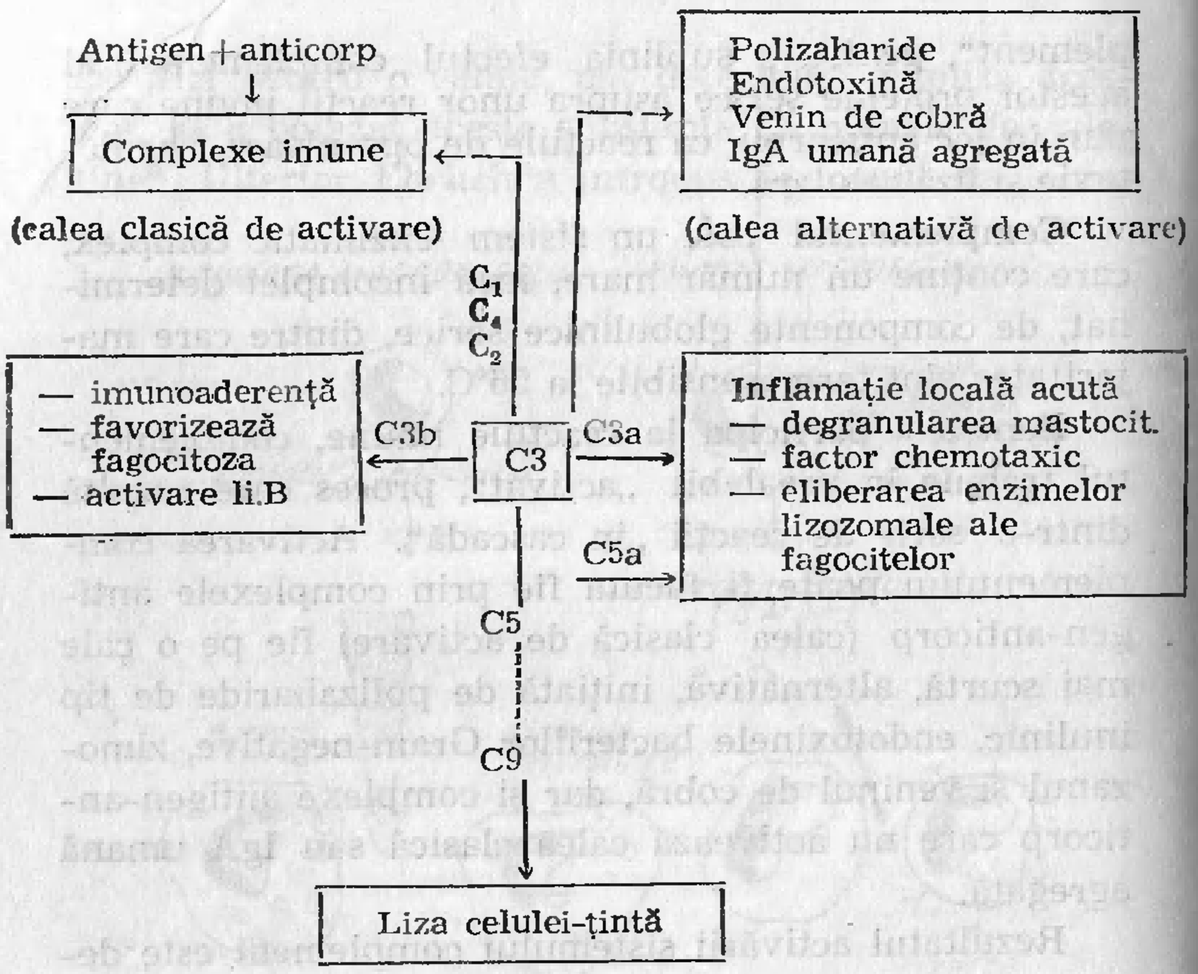

Fig. 9 — Căile de activare și funcțiile biologice ale complementului.

RĂSPUNSUL IMUN

Sisteme teoretice

Complexitatea enormă a răspunsului imun a constituit totdeauna o enigmă pentru cercetările din acest domeniu. În vederea lămuririi anumitor aspecte s-au emis numeroase teorii, unele ingenioase, altele atrăgătoare, dar toate dependente de nivelul posibilităților de investigare. Este interesant de observat cum nivelul de referință al diverselor ipoteze se adîncește pe măsura perfecționării tehnologiei de cercetare.

Prima problemă care a generat două tipuri de teorii opuse, a fost : *modul de dobîndire a specificității și variabilității anticorpilor* față de diferiți antigeni. Ceea ce mai pe scurt, se reduce la întrebarea esențială : „dacă o celulă poate produce mai mulți anticorpi cu mai multe specificități antigenice sau numai un singur anticorp purtînd o specificitate ?“

Admițînd prima posibilitate, teoriile *instructive* susțin că antigenul ajuns pe suprafața sau în interiorul

celulei limfocitare, instruiește producerea de molecule de Ig după tiparul propriu. Anticorpii produși în acest mod, purtători de tipar invers, se vor uni cu antigenul, neutralizîndu-l. Cu alte cuvinte „se fabrică o cheie pentru o broască" ! Cum se produce procesul de imprimare a tiparului ? Teoriile mai vechi, din anii 1930—40, susțineau o imprimare *directă* a antigenului care ar rămîne indefinit în celulă, servind ca matrice pentru sinteza complementară de anticorpi din elemente precursoare asemănătoare. Teoria imprimării *indirecte* susține că antigenul produce mutații în unitățile genetice ale sintezei de anticorpi, mutații ce se transmit celulelor fiice, perpetuînd sinteza aceluiași tip de anticorp.

Teoriile selective reprezintă a doua categorie, a căror premisă este că o celulă nu poate produce decît un singur tip de anticorp. În organism ar exista aprioric un număr imens de clone (familii) celulare diferite ce poartă locuri imuno-reactive, corespunzînd numărului de circa 10^5 al diferiților antigeni existenți în natură. Un antigen pătruns în organism, va selecta celula limfocitară potrivită genetic pentru răspuns imun, acesta se va activa, va prolifera și va produce anticorpul corespunzător. În acest caz se potrivește comparația „din mai multe chei existente, se alege una pentru o anumită broască".

După nivelul la care se face selecția, Jerne susține alegerea anticorpilor serici, iar Burnet plasează selecția la nivel celular prin teoria „selecției clonale". Alți cercetători indică un mecanism subcelular cu activarea producerii unei molecule de Ig-anticorp, cu sau fără inhibarea sintezei altor tipuri de Ig.

Factorii genetici au rol determinant în teoriile selective spre deosebire de cele instructive, care explică

specificitatea anticorpilor dobîndită prin mecanisme epigenetice.

Teoria selecției clonale poate explica și alte aspecte ale răspunsului imun, cum sînt : producerea memoriei imune, deosebirea între propriu de non-propriu. Astfel este cunoscut conceptul lui Burnet al „clonelor interzise" ce reprezintă familiile de limfocite capabile să reacționeze cu antigene proprii și care se nasc în organism odată cu celelalte clone limfocitare. În perioada embrionară, clonele interzise suferă o inhibiție funcțională sau chiar o eliminare, în timp ce clonele ce poartă tipare pentru non-propriu sînt selectate astfel că după naștere pot reacționa față de antigenii străini. Mecanismul de eliminare al clonelor interzise este incomplet înțeles, o pondere importantă atribuindu-se imaturității acestor clone ca și contactului cu cantități mari de antigeni proprii. O serie de date experimentale argumentează teoria selectivă : se dovedește existența de anticorpi „naturali" față de antigene cu care organismul n-a venit niciodată în contact, ca și faptul că o celulă poate produce numai un singur tip de anticorp aparținînd unei clase, subclase, allotip și idiotip de Ig. De la forma ei inițială emisă de Burnet, astăzi enormul cîmp de investigații ce ajung pînă la nivel molecular, adaugă noi cărămizi edificiului teoretic atît de genial construit.

Mergînd mai în detaliu, se cercetează care este mecanismul de învățare al clonelor limfocitare pe parcursul diferențierii lor. Se știe că sinteza de Ig este guvernată de genele structurale din genomul limfocitelor, care la rîndul său provine din genomul gameților. Spre deosebire de celelalte proteine, în cazul sintezei Ig, un lanț polipeptidic este codificat de două gene deosebite : una pentru regiunea constantă C, alta pentru regiunea variabilă V. Modul de codificare, care în final

realizează variabilitatea enormă a anticorpilor, este explicat prin trei teorii importante. Conform *teoriei liniei germinative*, la nivelul celulelor germinative sau gameților, ar exista un număr imens de gene ce cuprind informația genetică integrală și continuă pentru ambele regiuni C și V. La nivel de limfocit se exprimă o singură genă. Teoria nu explică constanța și variabilitatea celor două porțiuni ale moleculei de Ig, iar pe de altă parte implică o cantitate prea mare de material genetic pentru sinteza Ig.

Teoria mutației somatice pune accentul pe producerea de mutații întîmplătoare în tot parcursul diferențierii limfocitare. Mutațiile genei C vor duce la codificarea diferitelor clase și subclase ale moleculei de Ig, iar cele ale genei V la diversificarea locului de combinare cu antigenul. Față de numărul destul de redus al diviziunilor limfocitare, rata mutațiilor ar trebui să fie prea mare față de cea posibilă în natură. În 1965, Dreyer și Bennet propun modelul *recombinării somatice* care indică o singură genă C și mai multe V în linia germinativă a gameților. În cursul diferențierii limfocitelor se produc recombinări și translocări ce aduc o genă C alături de un anumit cistron V, formînd un complex genetic stabil capabil de codare.

Se dezvoltă biologia moleculară. Trei tehnici dovedesc validitatea teoriei recombinării :

1) evidențierea recombinări somatice cu ajutorul endonucleazelor de restricție ; 2) tehnica hibridizării ADN ; 3) clonarea genelor ce codifică sinteza de Ig. Prin vizualizare electromagnetică a genelor clonate, se dovedește direct că regiunile C și V sînt codificate separat, apoi se formează gena activă prin recombinări somatice. Se produce o cascadă de recombinări ce se succedă în etape bine definite : se începe cu genele regiunilor V pentru lanțuri grele, acestea se unesc apoi cu gena C_μ

formînd transcript pentru lanțurile μ ; urmează în același mod rearanjarea genelor V ale lanțurilor x. Cînd apare un defect de rearanjare a genelor Vx într-o clonă, se induce comanda altor clone limfocitare B de declanșare a recombinărilor genelor V pentru lanțuri λ. Sinteza are loc numai pe un cromozom, perechea lui devenind nefuncțională. Acest mecanism asigură producerea unui singur lanț H și respectiv L, avînd aceeași specificitate antigenică.

Astfel se realizează diversitatea anticorpilor prin recombinări somatice și mutații punctiforme ce survin într-o primă etapă în molecula de ADN, iar într-o a doua etapă în molecula de ARN. Transcriptul primar la nivelul ARN mesager poate fie clivat astfel încît poate codifica fie Ig de membrană, fie forma secretată. Dacă toate combinațiile genice pentru lanțuri grele și ușoare ar fi folosite, s-ar putea genera zilnic din măduva osoasă cam 1 milion de clone diferite de limfocite B imature.

În cursul maturării se produce etapa finală a rearanjărilor genetice, schimbîndu-se secreția de IgM caracteristică pentru răspuns primar, în altă clasă de Ig caracteristică răspunsului secundar însă în cadrul aceleiași specificități. Acest fenomen denumit „macaz izotipic", se realizează prin rearanjări ale genelor C față de complexul activ V în urma semnalelor emise de anumite sisteme enzimatice.

Anumite aspecte ale răspunsului imun, încă insuficient lămurite cum sînt problemele funcționale specifice de interreglare, realizarea de interconexiuni, sînt explicate prin originala *teorie a rețelii* emisă de Jerne în 1974. Teoria oferă o imagine nouă, total diferită de cea anterioară, asupra componentelor imunității, în care așezarea sterică, geometrică a structurilor biochimice are rol determinant.

Variația idiotipică a determinanților antigenici prezenți pe orice moleculă de Ig, este produsă de structuri unice ale genei V ; ea determină un caracter individual celulei, deci de marker clonal. Acești determinanți idiopatici, sau pe scurt idiotopi sînt, prezenți atît pe Ig

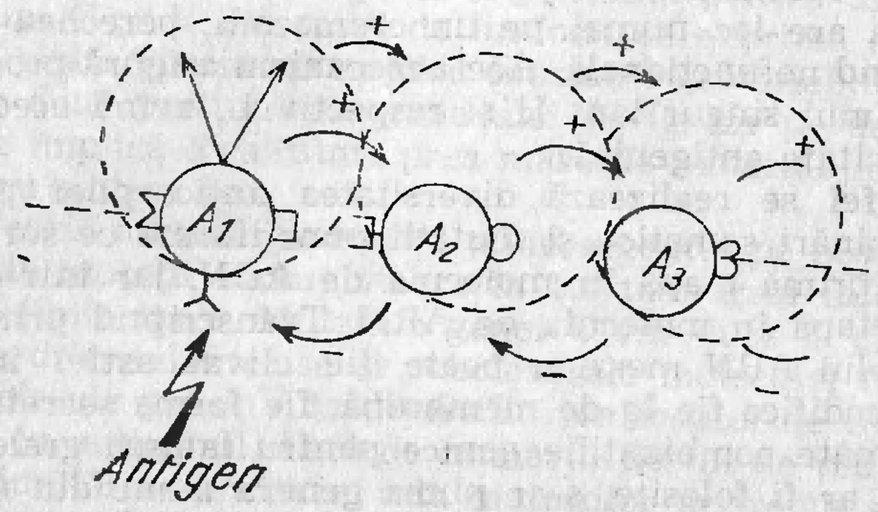

Fig. 10 — Reprezentarea schematică a cascadei reacțiilor idiotip-anti-idiotip.

libere din ser, cît și pe receptorii pentru antigen de pe limfocitele T și B. Fiecărui idiotop îi corespunde în organism un tipar invers, un anticorp anti-idiotip. Jerne prezintă sistemul imun ca o rețea de legături idiotip-anti-idiotip prin care comunică clonele, stimulîndu-se sau supresîndu-se reciproc, realizînd o stare de echilibru la individul neimunizat (fig. 10). Existența idiotipurilor, a pre-existenței anticorpilor anti-idiopatici ca și a rețelei lor au fost dovedite experimental pentru imunitatea umorală și pentru cea de hipersensibilitate tardivă.

Pătrunderea unui antigen tulbură echilibrul rețelei printr-o secvență de reacții :

1) antigenul se leagă de cantități mici din anticorpul natural corespunzător (A1) și-l îndepărtează din sistem ;

2) ca urmare, clonele A2 anti-idiotip A1, lipsite de stimulul lor natural (A1), încetează acțiunea lor supresoare anti A1 ;

3) clonele A1 stimulate de antigen proliferează și secretă anticorpi A1 ;

4) cînd aceștia ating un prag imunogenic, stimulează producerea clonelor A2 care la rîndul lor vor stimula pe cele A3 ș.a.m.d., realizînd un alt nivel de echilibru al rețelei la individul imunizat. Aceste reacții au ca urmare neutralizarea antigenului cu multă economie pentru sistemul imun.

Originalitatea teoriei constă în conceptul „imaginii interne" a antigenului care se reflectă în tiparele complementare ale idiotopilor. Într-adevăr, printre structurile sterice ale anticorpilor anti-idiopatici, unele sînt similare cu determinanți antigenici ai antigenilor convenționali, fără a avea o identitate biochimică. Ca urmare, acești idiotopi, fiind recunoscuți de anticorpii specifici intră în competiție de legare cu antigenul, pe care o pot bloca. „Imaginile interne" idiotipice de pe receptorii limfocitari pot mima structuri asemănătoare cu : antigeni convenționali *non-self*, antigeni codificați de MHC, antigeni virali, locuri active hormonale etc. Mai mult decît atît, ele pot mima funcția antigenului reflectat. Urmarea logică este că anticorpul anti-idiotipic poate constitui el însuși un stimul pentru răspuns imun, inducînd producerea de anticorpi ce pot reacționa cu antigenul. Această concluzie conduce la o aplicație de perspectivă : producere de vaccin din anticorpi monoclonali ce poartă imagini interne ale antigenilor microbieni sau virali. Se preconizează în mod similar inducerea diferențierii și proliferării limfocitare, purtînd o anumită specificitate antigenică, acesta fiind înlocuit cu anticorpi anti-idiotipici.

Rețeaua idiotipică prin însăși structura sa implică și fenomene de reglare ale componenților imunității. Reglarea se referă la *supresia* idiotipică, fenomen complex, generat de interacțiunea idiotip — anti-idiotip, ce induce :

1) blocarea maturației clonelor B precursoare ;

2) generarea de limfocite T supresoare ;

3) blocarea răspunsului efector al limfocitelor T citotoxice. Aceste procese realizează o *reglare de finețe* a sistemului imun, limitînd numărul clonelor ce pot fi stimulate de un antigen și neutralizînd antigenul cu o minimă mobilizare a sistemului imun. Clona aleasă pentru răspuns față de un antigen dat, depinde de baza genetică individuală, istoria imună a speciei respective și de posibilitatea stimulării limfocitelor T reglatoare specifice. Teoria rețelii este o generalizare a teoriei selecției clonale și ambele teorii caută să integreze elementele participante la răspunsul imun, în concepte mai largi care să descrie funcționarea sistemului imun ca un întreg.

Comanda genetică a răspunsului imun

Omul, ca și animalele, prezintă mari variații individuale ale răspunsului imun față de un antigen. Dintre factorii răspunzători ai acestei variații, unii depind de antigen, ca natură, cantitate, cale de pătrundere, iar alții de gazdă, ca vîrstă, stare de sănătate, dar mai ales ca zestre genetică. Astfel, capacitatea unui organism de a reacționa printr-un răspuns imun eficient sau redus, se află sub control strict genetic.

În baza datelor obținute pînă în prezent, se știe că răspunsul imun al unui organism este dirijat de două regiuni genetice :

1) genele V (regiuni variabile ale Ig) plasate la om pe cromozomul 14 pentru lanț greu, pe cromozomul 2 pentru lanț ușor x și pe cromozomul 22 pentru lanț ușor λ. Fiind asamblate cu genele C într-un complex genetic activ, ele codifică sintezele : receptorului pentru antigen de pe limfocitele B, moleculelor de Ig anticorp secretate, și parte din receptorul pentru antigen de pe limfocitele T ;

2) genele de „răspuns imun", denumite Ir la șoarece cu corespondent DR la om, sînt incluse printre genele complexului major de histocompatibilitate (MHC), localizate la om pe cromozomul 6.

Complexul major de histocompatibilitate, denumit HLA la om și H-2 la șoarece, este format din mai multe regiuni genetice ce codifică : antigenii majori de transplantare sau de clasa I, care sînt prezenți pe toate celulele organismului, antigenii minori de transplantare sau de clasa II, prezenți numai pe membrana celulelor răspunsului imun. Alăturarea acestor gene ale căror produse au acțiuni sinergice, sugerează că ele provin dintr-o singură genă ancestrală reduplicată în cursul filogeniei, care a asigurat speciei avantaj de creștere prin posibilitatea de a deosebi propriul de non-propriu. Genele de răspuns imun se moștenesc după model simplu mendelian ca trăsături dominante. Harta acestor gene s-a stabilit la șoareci prin studierea liniilor pure de animale imunizate cu antigeni sintetici, ca și prin recombinarea acelor linii de animale ce diferă numai printr-un loc genetic. Se înțelege că studii de acest tip la om nu se pot efectua, dar concluziile obținute de la animale se pot interpreta prin analogie la om.

S-a dovedit că produșii de codare ai regiunii genetice Ir sînt antigenii Ia. Prin analogie, la om, regiunea genetică DR codifică antigenii Ia-*like* sau HLA-DR, similari ca funcție. Acești antigeni sînt localizați pe

membrana celulelor prezentatoare de antigeni ca macrofage, celule dendritice, limfocite B, dar și pe limfocitele T activate, reglînd interacțiunile intercelulare în diferitele etape ale răspunsului imun. Astfel recunoașterea antigenului, ca primă etapă ce inițiază un răspuns

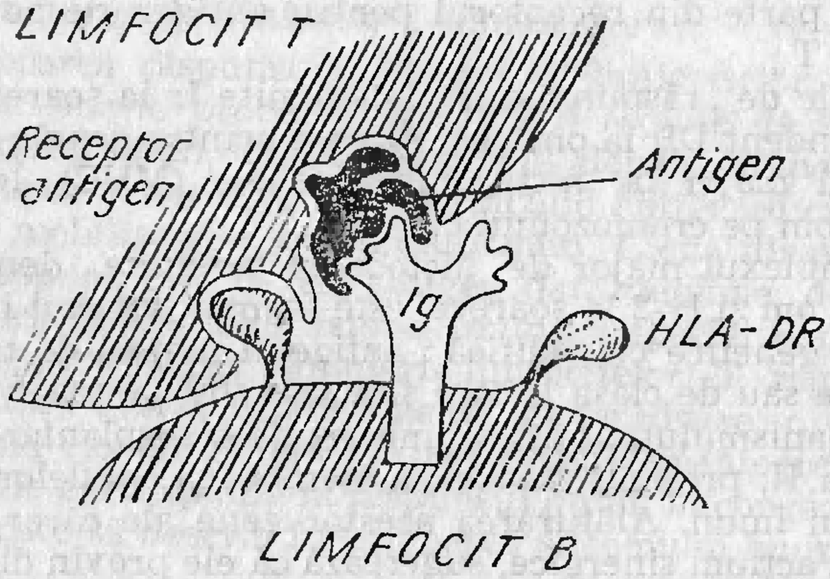

Fig. 11 — Schema cooperării între limfocitele T și B condiționate de HLA-DR (după Littman B.H.).

imun, este condiționată de prelucrarea și prezentarea antigenului numai în legătură cu antigerul Ia, care trebuie să fie identic pe celulele care interacționează (fig. 11) : macrofag, limfocit B față de li.T sau macrofag față de li.B. Identitate similară a antigenilor Ia este necesară și în interrelațiile celulare din etapa finală efectoare de răspuns imun : umoral între li.T și li.B, ca și cel mediat celular, în interacțiunea li.T reglator față de li.T efector. În aceste situații moleculele active în inducerea și supresia răspunsului imun, ca și controlul lizei celulelor infectate cu virusi sau transformate neoplazic, sînt codificate tot de genele Ir.

În plus genele Ir decid care determinant antigenic de pe molecula de antigen va elicita un răspuns imun celular sau umoral, deci un răspuns specific T sau B.

Producerea de mutații în anumite zone ale genelor Ir sau V de la șoarece conduc la defecte ale răspunsului imun. În primul caz pot fi afectate selectiv celulele imunocompetente, avînd ca efect hipo- sau areactivitatea față de antigene T-dependente. În cel de al doilea caz animalul este deficitar în răspunsul anticorpic fată de un antigen dat, T dependent sau independent.

L-a om s-a observat că un număr mare de boli se corelează în mod semnificativ cu prezența anumitor produse ale genelor HLA. Aceste observații au o importanță deosebită pentru înțelegerea mecanismului predispoziției genetice față de boală. Bazați pe aceste asocieri, antigen HLA-boală X, se poate calcula riscul relativ de îmbolnăvire a unui individ în cadrul unei populații similare etnic.

În domeniul oncologiei nu s-au dovedit asocieri între un anumit fenotip HLA și tip de cancer, dar s-au observat supraviețuiri îndelungate în unele cancere la purtătorii anumitor antigene HLA. Aceste date sugerează în plus rolul zestrei genetice individuale și în lupta față de invazia neoplazică.

Ca o concluzie a datelor prezentate, putem considera reglarea sistemului imun sub două aspecte : pe de o parte funcționează prin autoreglare, similar unui sistem cibernetic, prin conexiuni celulare și umorale directe și inverse, de tip *feed-back* pozitiv și negativ, iar pe de altă parte, toate aceste interrelații depind ca mod de specificitate de comanda genetică a individului.

Sistemul imun în acțiune

Format dintr-o armată numeroasă de apărători (limfocite și macrofage), înarmate cu mijloace eficiente de luptă, fie corp la corp, fie prin mediatori (limfokine, monokine, anticorpi), plasat în poziții strategice avantajoase pentru a putea intercepta agresorii, sistemul imun asigură prin procese deosebit de complexe menținerea integrității organismului (fig. 12). Mecanismele de apă-

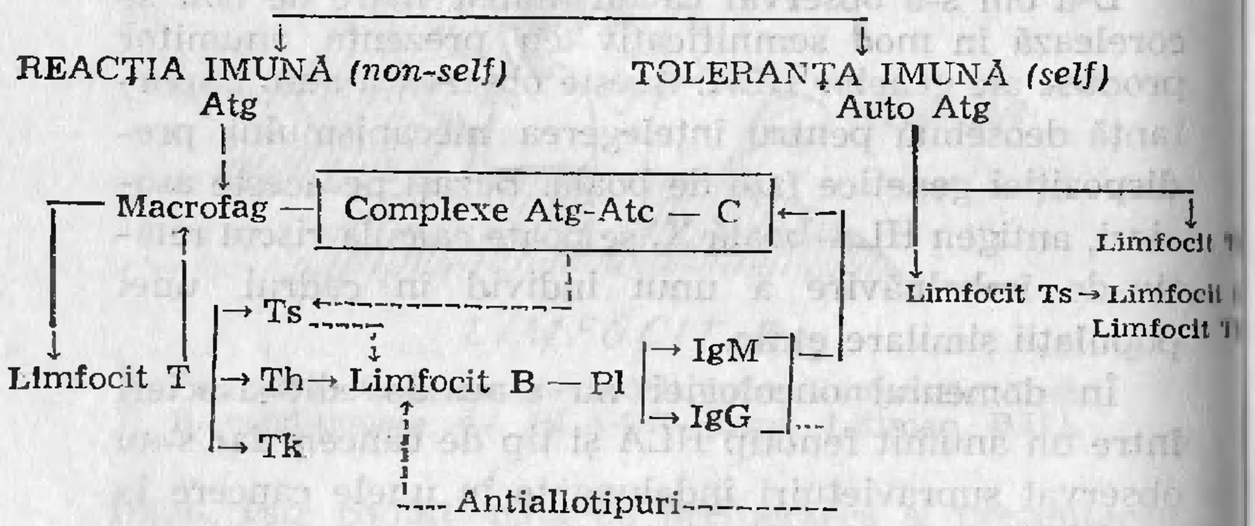

Fig. 12 — Schema conexiunilor răspunsului imun și a toleranței imunologice înnăscute (după Berceanu Șt., 1981).

rare imună realizează astfel rezistența antiinfecțioasă față de bacterii, virusuri, protozoare, paraziți, îndepărtarea elementelor celulare îmbătrînite sau lezate, recunoașterea și eventual distrugerea celulelor neoplazice apărute în organism precum și respingerea grefelor de celule, țesuturi și de organe alogenice (fig. 13).

Pe de altă parte sistemul imun nu exercită influențe nocive asupra structurilor proprii deoarece față de

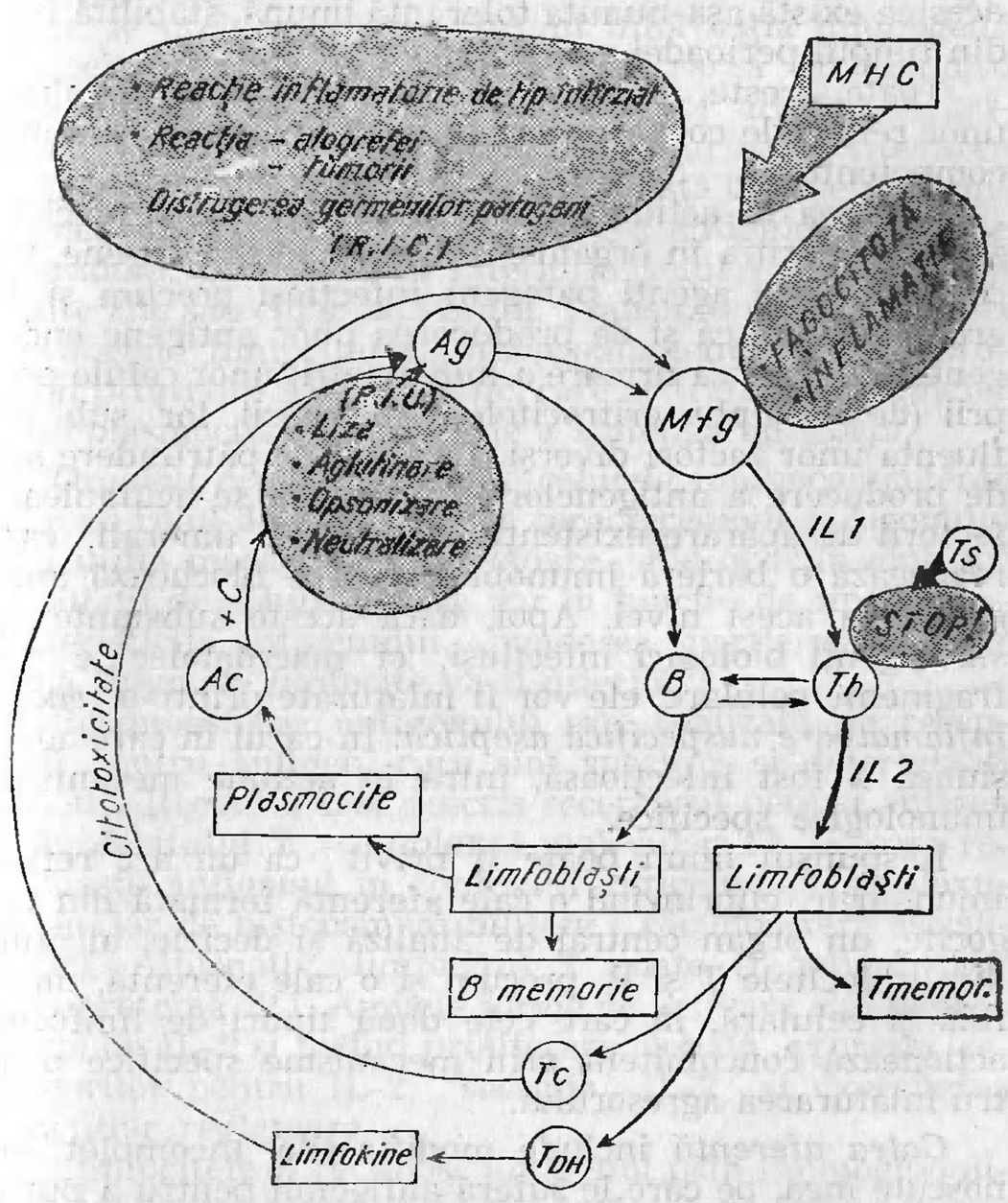

Fig. 13 — Conexiunile celulare și umorale ce determină răspunsurile imune. Pătrunderea unui antigen în organism declanșează o reacție în lanț; reacții imune celulare și umorale concură la distrugerea și îndepărtarea lui.

acestea există așa-numita toleranță imună, stabilită încă din timpul perioadei embriofetale.

Toate aceste mecanisme imune implică stabilirea unor relații de cooperare multiple între celulele imunocompetente.

Intrarea în acțiune a sistemului imun este declanșată de apariția în organism a antigenelor exogene, reprezentate de agenți patogeni infecțioși precum și de grefe alogene, ca și de producerea unor antigene endogene, rezultate ca urmare a îmbătrînirii unor celule proprii (de exemplu, eritrocitele) sau lezării lor sub influența unor factori diverși. La locul de pătrundere sau de producere a antigenelor în organism se acumulează factorii de apărare existenți, celulari și umorali, care realizează o barieră imunobiologică ce blochează antigenele la acest nivel. Apoi, dacă aceste substanțe nu sînt agenți biologici infecțioși, ci macromolecule sau fragmente celulare, ele vor fi înlăturate printr-o *reacție inflamatoare nespecifică aseptică*. În cazul în care agresiunea a fost infecțioasă, intră în acțiune mecanisme imunologice specifice.

Răspunsul imun poate fi privit ca un arc reflex imunologic, cuprinzînd o cale aferentă formată din fagocite, un organ central de analiză și decizie, alcătuit din limfocitele T și B, precum și o cale eferentă, umorală și celulară, în care cele două tipuri de limfocite acționează concomitent prin mecanisme specifice pentru înlăturarea agresorului.

Calea aferentă include modificările, incomplet cunoscute încă, pe care le suferă antigenul pentru a putea declanșa răspunsul imun. Aceste modificări au loc la nivelul fagocitelor care se acumulează rapid consecutiv prezenței antigenului în țesuturi. Polimorfonuclearele fagocitează cea mai mare parte a substanțelor antigenice pe care le distrug cu ajutorul enzimelor lizozomale. Ma-

crofagele fagocitează doar 10—15% din totalul antigenelor, le prelucrează și transmit informația imunogenă limfocitelor din vecinătate. Prelucrarea antigenului prin digestia sa la nivelul fagosomilor are loc în primele 17 ore ale reacției și are drept urmare eliberarea unor grupări determinante care persistă la nivelul membranei macrofagelor. O mică parte a antigelului nu este degradată, persistînd în interiorul celulei timp de mai multe zile sau chiar săptămîni. Transmiterea informației imunogene limfocitelor imunocompetente se face probabil printr-un ARN specific, care ar transmite celulelor limfoplasmocitare ordinul de a sintetiza anticorpi.

Organul central cuprinde celulele imunocompetente care au rolul de a recunoaște caracteristicile antigenului și a iniția mecanismele efectoare. Ele aparțin ambelor populații de celule T și B, dar în funcție de tipul și caracteristicile antigenului, ponderea participării celor două tipuri de limfocite va fi diferită.

Recunoașterea antigenului este realizată de receptorii pentru antigen, care sînt specifici și determinați genetic. Recent a fost descris receptorul pentru antigen al limfocitului T : complexul molecular T3-Ti, care recunoaște antigenul în contextul antigenelor complexului major de histocompatibilitate („recunoaștere asociativă"). Alternativ, limfocitul T poate fi activat prin glicoproteina T11. Ambele forme de activare sînt dependente de IL-2 și includ proliferare clonală, expresia receptorilor pentru IL-2, secreția IL-2 și exercitarea funcțiilor reglatoare.

Limfocitele B recunosc antigenul prin imunoglobulinele lor de suprafață (IgD sau IgM). După interacțiunea lor cu receptorii imunoglobulinici complementari, particulele antigenice sînt internalizate și digerate parțial. Fragmentele antigenice sînt apoi exprimate pe suprafața limfocitelor B în asociere cu moleculele de clasa II

a complexului MHC. Această asociere poate fi recunoscută ulterior de o celulă T prin receptorii ei pentru antigen. Pe această cale, celulele B, ca și macrofagele, pot prezenta antigenul celulelor Th. Acestea vor fi astfel stimulate să producă factori care să determine proliferarea și diferențierea celulelor B care le-au prezentat antigenul.

Stimulul antigenic este esențial, dar insuficient pentru declanșarea reacțiilor imune. Aceste reacții se instalează numai în prezența unui al doilea stimul, lansat de celula inductoare către cea indusă. Pentru realizarea celor doi stimuli (stimulul I de la antigen și stimulul II de la antigenele de membrană ale celulei inductoare, controlat de MHC), se instalează cooperări între macrofage și limfocite T, între limfocitele T și macrofag, între limfocitele T—T, T—B și B—T. Semnalele pot fi transmise direct prin contact intercelular sau prin mediatori solubili secretați de către celulele implicate în cooperare (IL-1 de către macrofage, IL-2, MAF, MIF de către limfocitele T etc.). În cadrul cooperărilor celulare, celula indusă poate intra în relații funcționale numai cu celula inductoare care are același MHC, cu excepția stimulilor mitogenici sau a mesajelor transmise prin mediatori solubili, unde histocompatibilitatea între celula care transmite și cea care primește mesajul nu este necesară.

Arcul eferent constă din reacțiile specifice și nespecifice care încearcă să distrugă antigenul după recunoașterea acestuia. Aceste reacții duc la apariția anticorpilor circulanți, la inducerea unei stări de hipersensibilitate sau a unei citolize mediate celular, sau la instalarea unei stări imunitare refractare (toleranța imună). Aceste variate tipuri de răspuns imun sînt condiționate de modalitățile de imunizare și mai ales de proprietățile fizice, chimice și sterice ale antigenului. Deoarece fiecare clonă

de limfocite răspunde doar la un anumit antigen, pe care îl recunosc prin receptorii de membrană, prezența în țesut a unui antigen va activa specific clona corespunzătoare de limfocite, care, putînd fi de tip B sau T, va iniția un răspuns imunitar diferit.

Răspunsul imun umoral este elaborat de limfocitele B, care în cazul antigenelor timodependente (majoritatea antigenelor naturale) necesită cooperarea cu limfocitele Th, în timp ce antigenele timoindependente se fixează direct pe celulele B care au receptori complementari față de grupările lor determinante. Sub influența stimulului antigenic limfocitele B ale clonei activate se diferențiază în plasmocite secretoare de anticorpi, trecînd printr-o fază de celulă blastică ce se multiplică masiv. În 4 zile dintr-o celulă rezultă cam 500 de plasmocite, care secretă aproximativ 2 000 de molecule de Ig pe secundă. O parte din limfoblești vor genera noi limfocite mici (celule B de memorie), care la o nouă stimulare antigenică cu același antigen, vor răspunde mult mai rapid și mai intens. Distingem astfel un răspuns imun primar și un răspuns imun secundar (fig. 14).

Răspunsul imun I se caracterizează printr-o perioadă de latență variabilă după antigen : 3—4 zile pentru hematii de oaie, 5—7 zile pentru proteine solubile, 10—14 zile pentru bacterii, pînă la 3 săptămîni pentru anatoxina difterică etc. Durata perioadei de latență mai depinde de doza de antigen, de forma acestuia (antigenele particulate au latență mai scăzută). Titrul anticorpilor începe apoi să crească exponențial, timpul de dublare fiind cuprins între 6—15 zile, în funcție de antigen și de doza administrată. Titrul maxim este atins după 4—5 zile pentru eritrocite heterologe, 9—10 zile pentru proteinele solubile și pînă la 3 luni pentru anatoxina difterică. După ce se menține cîteva zile în platou, ti-

trul anticorpilor serici începe să scadă. În primele zile, după imunizare, predomină anticorpii din clasa IgM, care sînt mult mai eficienți datorită numărului mare de *situs*-uri combinative prezente pe molecula lor. După 2—3 zile încep să se producă anticorpi de tip IgG al

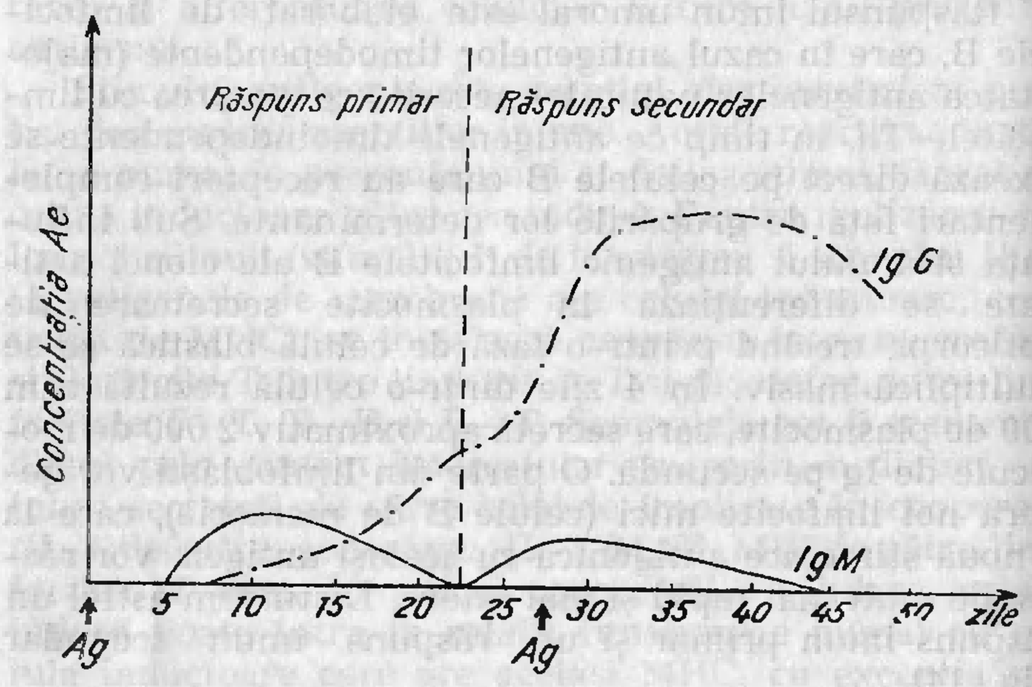

Fig. 14 — Răspunsul imun umoral primar și secundar.

căror titru crește intens după 5—6 zile, concomitent cu inhibarea secreției de IgM datorită efectului de *feed-back* negativ exercitat de IgG. Administrarea celor mai multe antigene determină această secvență secretorie de IgM→IgG, excepție făcînd doar antigenele timoindependente care induc producerea exclusiv a IgM.

Răspunsul imun II, care poate fi determinat și de o doză de antigen mai mică decît cea inițială, este caracterizat prin creșterea rapidă a titrului de anticorpi (perioada de latență este redusă la jumătate), la un nivel superior celui obținut după prima stimulare antigenică

și pe o perioadă de timp mult mai lungă. Anticorpii secretați aparțin în cea mai mare parte clasei IgG.

Odată sintetizați, anticorpii își exercită acțiunea asupra antigenelor prin mai multe mecanisme : Ig pot să acționeze direct asupra invadatorului, deși se pare că în condiții normale nu acesta este mijlocul major de protecție antimicrobiană, determinînd aglutinarea agenților antigenici, precipitarea sub formă insolubilă a complexelor formate de Ig cu antigenele solubile sau neutralizarea *situs*-urilor toxice ale antigenelor. Un mecanism care amplifică enorm acțiunea protectoare a Ig este activarea complementului, care duce la lizarea membranei celulare a agentului invadant (bacterii, alte celule), aglutinarea antigenelor particulate, opsonizarea bacteriilor care pot fi astfel mai ușor fagocitate, neutralizarea virusurilor cu pierderea consecutivă a virulenței lor. De asemenea se produce o reacție inflamatoare cu hiperemie și se constituie o barieră fibrino-imunoleucocitară care blochează agenții microbieni la poarta de intrare, favorizînd intervenția celorlalți factori care încearcă distrugerea lor. La aceasta contribuie și chemotaxia, capacitatea unora dintre factorii sistemului complement de a atrage neutrofile și macrofage în zona în care se află antigenul, facilitînd fagocitarea. Unele Ig, în special cele din clasa IgE (reagine), au proprietatea de a activa mecanismele anafilactice, acesta constituind un al treilea mod de acțiune al IgE, fixîndu-se pe mastocite și pe bazofile, provoacă eliberarea unor factori cu importante acțiuni locale (amintim histamina, cu proprietăți vasoactive) și a unor enzime lizozomale care produc reacția inflamatoare locală.

Dar nu toate antigenele pot fi distruse de anticorpii umorali. Unele antigene macromoleculare și celulare, agenți biologici facultativ intracelulari, celule îmbătrînite sau lezate necesită un răspuns imun mediat celu-

lar. Același mecanism intervine în respingerea grefelor și reacția grefă-contra-gazdă ca și în imunitatea antitumorală. Răspunsul imun mediat celular se deosebește de cel umoral prin faptul că este localizat în zona în care se găsește antigenul și apare după 48—72 ore. Hipersensibilitatea se poate transmite de la un animal imunizat la unul normal numai prin inocul de limfocite T vii sau prin extracte celulare conținînd un factor de transfer, și poate persista ani de zile. Antigenul liber sau înglobat de macrofage este transportat de limfa drenată din regiunea respectivă la nivelul ganglionilor limfatici. Aici vine în contact cu limfocitele T, determinînd activarea clonei corespunzătoare antigenului în cauză. Aceasta induce transformarea blastică a limfocitelor. După cîteva diviziuni succesive limfoblaștii generează limfocite mici, sensibilizate specific față de antigenul respectiv. Acestea sînt descărcate în limfă cu care ajung în sînge, de unde, după cîteva minute sau ore, extravazează în țesuturi. Unele celule T sensibilizate vor recunoaște antigenul și vor interacționa cu el, altele, celulele de memorie, vor persista în țesutul limfoid perioade foarte lungi, uneori toată viața, gata să se trezească la o nouă întîlnire cu antigenul față de care s-au sensibilizat. Interacțiunea cu determinanții antigenici ai agresorului recunoscut de limfocitele T sensibilizate poate duce direct la liza acestuia prin mecanismele citotoxicității mediate celular. Aceste efecte distructive directe sînt destul de slabe, ca și în cazul anticorpilor înșiși. Amplificarea reacțiilor imune mediate celular se face prin secreția de către celulele T sensibilizate a unor mediatori solubili activi, denumiți de Dumonde (1969) limfokine. Acești veritabili mediatori umorali ai imunității celulare își exercită acțiunea asupra limfocitelor, macrofagelor, celulelor-țintă etc. Menționăm pe cei mai importanți :

— limfokine cu acțiune asupra limfocitelor :

— factorul de transfer, recrutează limfocitele mici din vecinătate, transferîndu-le caracteristici similare celor ale limfocitelor T sensibilizate ;

— factorul de creștere a celulelor T (TCGF sau Interleukina-2, IL-2), activează proliferarea limfocitelor, facilitează inducerea de celule Tc, menține viabilitatea și asigură proliferarea liniilor de celule T în cultură continuă etc. ;

— factorul ajutător al limfocitelor B (BHF) ;

— factorul supresor, care inhibă funcțiile limfocitelor B ;

— limfokine care acționează asupra macrofagelor :

— factorul chemotactic stimulează extravazarea monocitelor circulante pe care le atrage în locul în care se află antigenul, un limfocit sensibilizat putînd atrage astfel 1 000 de macrofage ;

— factorul de inhibiție a migrării macrofagelor (MIF) menține macrofagele la locul inflamației ;

— factorul de activare a macrofagelor (MAF) mărește eficiența citotoxică a acestora față de celulele neoplazice ;

— limfokine cu acțiune asupra celulelor-țintă :

— factori inhibitori ai creșterii celulelor-țintă ;

— limfotoxina — în doze mari ucide nespecific orice celulă prin degradarea membranei plasmatice ;

— interferonii — substanțe anti-virale (și nu numai) nespecifice care inhibă replicarea virală intracelulară și care se sintetizează ca răspuns la infecția virală.

Eliberarea unuia sau mai multor factori chemotactici de către limfocitele sensibilizate specific atrage alte limfocite nesensibilizate, reacția amplificîndu-se astfel prin eliberarea de factori care recrutează și stimulează un număr crescut de limfocite. În același timp se eliberează și factori care atrag un număr mare de monocite din

sînge și acestea, sub acțiunea altor limfokine, se transformă în macrofage activate care sînt mobilizate local. În final răspunsul imun mediat celular se exprimă sub forma unei reacții inflamatoare de hipersensibilitate întîrziată, a omorîrii și digerării germenilor patogeni sau sub forma unei reacții citotoxice în care cooperarea limfocitelor T cu macrofagele duce la rejecția alogrefei sau tumorii.

* * *

Am trecut în revistă principalele secvențe ale acestui film, fantastic prin deosebita sa complexitate, care se referă la răspunsul imun în general. În funcție de natura antigenului, răspunsul imun poate să fie exprimat prin anumite mecanisme caracteristice. Să analizăm pe rînd răspunsul imun antiinfecțios în general și cel anti-viral în special, răspunsul imun implicat în transplantul de organe, precum și răspunsul imun care asigură supravegherea antitumorală.

1. **Răspunsul imun antiinfecțios** se îndreaptă față de hoardele de dușmani nevăzuți care mișună în jurul nostru. Multe microorganisme cresc în sau pe organismul animal fără a-i face nici un rău : sînt comensali sau simbionți. Totuși, uneori organismul este invadat de anumite microorganisme parazite care trăiesc dependent de gazdă și care vor folosi toate mijloacele pentru a provoca o infecție. Pentru a provoca o boală infecțioasă, un agent patogen microbian trebuie să poată pătrunde în interiorul gazdei, să se multiplice în țesuturile acesteia, să reziste la mecanismele de apărare ale gazdei și să o atace. Poarta de intrare poate fi diferită după tipul microorganismului și după capacitatea lui de a ataca anumite organe sau părți ale corpului. Astfel, agenții patogeni ai febrei tifoide, dizenteriei, holerei preferă calea alimentară, fiind capabile să reziste la acțiunea

salivei și a sucurilor gastrice, ca și aciditații stomacului. Calea respiratorie este abordată de microorganismele care vor ataca bronhiile și plămînii (pneumococul, bacilul Koch). Gonococul și spirochetele preferă tractul genito-urinar. Tăieturi ale pielii oferă un mediu de viață prielnic stafilococilor care vor forma aici focare infecțioase (furuncule). Alți agenți patogeni pătrund în organism prin înțepături de insecte sau mușcături de animale (tifos, turbare).

Dar oricît ar fi de virulente (capabile să infecteze o gazdă și să se multiplice în ea), un microorganism poate provoca boală sau epidemie numai dacă infectează din nou alte gazde sensibile. Un agent patogen foarte virulent își semnează propria condamnare la moarte dacă își ucide gazda sau îi provoacă o reacție imună. Din această cauză toate epidemiile se controlează ele însele, căci gazdele puțin rezistente sînt eliminate iar cele rezistente și imunizate supraviețuiesc. Transmiterea microorganismelor de la o gazdă la alta depinde de doi factori importanți : ieșirea din gazdă și pătrunderea într-o nouă gazdă sensibilă. Între aceste două momente microorganismul trebuie să poată supraviețui într-un mediu defavorabil. Agenții patogeni părăsesc gazda prin tuse sau strănut (agenții bolilor respiratorii), prin materiile fecale (patogenii enterici), prin contact direct (agenții sifilisului și blenoragiei), iar alte microorganisme necesită o gazdă intermediară.

Odată intrate într-o nouă gazdă, microorganismele trebuie să facă față mecanismelor de apărare pe care le are macroorganismul invadat. Există astfel, din fericire, o *rezistență naturală* față de infecții, care depinde de o serie de factori : starea de sănătate generală a gazdei, starea sa nutritivă, condițiile economice și sociale și alții. Rezistența sau sensibilitatea la infecții poate fi va-

riată de la o specie la alta, omul fiind de exemplu sensibil la gonococ, în timp ce iepurele este rezistent la această bacterie. Se observă de asemenea diferențe rasiale la oameni, amerindienii fiind astfel mai puțin rezistenți la bacilul Koch decît europenii. Se remarcă de asemenea o rezistență mai crescută la malarie la aproape toți negrii africani și la 70% din negrii americani, în timp ce majoritatea albilor sînt sensibili. Fenomenul s-ar explica prin selecția naturală a indivizilor celor mai rezistenți, care s-a manifestat după secole de asociere între germenii patogeni și om.

Există și o rezistență individuală la infecții : unii indivizi au guturai mai des decît alții, iar unii nu au niciodată, deși au fost expuși la agentul patogen ; în familii cu mai mulți copii se întîmplă uneori ca toți cu excepția unuia să facă o boală infecțioasă a copilăriei (pojar, varicelă). Rezistența individuală depinde de o serie de factori. Vîrsta joacă un rol important, copiii și bătrînii fiind mai expuși îmbolnăvirilor. Imediat după naștere copiii sînt protejați de anticorpii pe care i-au primit de la mamă prin placentă și prin colostru. Apoi, pentru a rezista pînă la deplina maturare a sistemului lor imun, ei sînt vaccinați, dobîndind astfel o rezistență artificială. În ceea ce privește declinul răspunsului imun la bătrîni, acesta s-ar putea explica prin alterarea semnificativă a funcțiilor celulelor T cauzată mai curînd de un defect intrinsec al celulelor T decît de involuția timică.

Starea nutrițională a individului influențează și ea capacitatea de rezistență la infecții. Obiceiurile igienice sînt de asemenea importante.

În calea agenților patogeni stau o serie de bariere mecanice și chimice care împiedică de obicei pătrunderea lor în organism. Majoritatea bacteriilor sînt inhibate de acidul lactic din secrețiile glandelor sudoripare

și sebacee, de pH-ul acid al acestor secrații. Secrețiile mucoase ale căilor respiratorii, digestive și urogenitale formează un strat protector care capturează și reține microorganismele pînă cînd sînt eliminate. Unele din aceste secrații conțin substanțe antimicrobiene, lizozimul fiind un exemplu. Această enzimă, care se găsește mai ales în lacrimi, lizează peretele a numeroase bacterii.

Dacă totuși barierele sînt ineficiente și bacteriile pătrund în țesuturi, la locul de intrare se declanșează un proces inflamator în care sînt atrase microfagocitele ; ele preiau materialul infectant pe care îl degradează eliberînd antigenele bacteriene. Inflamația are ca rezultat localizarea infecției și inițierea proceselor de răspuns imun umoral și celular, în funcție de proprietățile specifice ale agentului infecțios. Astfel, bacteriile piogene, al căror conflict cu organismul gazdă este dominant de tip inflamator, rămîn de obicei cantonate la locul de intrare, unde intervin fagocitele și anticorpii specifici opsonizanți, aglutinanți, bacteriolitici și neutralizanți pentru diferitele antigene bacteriene eliberate. Alte bacterii (b. difteric, streptococi), deși sînt localizate la poarta de intrare, acționează asupra întregului organism prin eliberarea de toxine. Producerea unor anticorpi neutralizanți față de aceste toxine rezolvă conflictul gazdă-parazit în favoarea macroorganismului. În infecțiile cu bacterii gram-negative antigenul este timoindependent, putînd stimula direct limfocitele B care vor produce rapid o cantitate mare de anticorpi.

Imunitatea celulară se dezvoltă predominant în infecțiile cu bacterii facultativ intracelulare (b. tuberculozei, b. brucelozei). La locul infecției se recrutează preferențial macrofage și se eliberează mediatori solubili de către limfocitele T sensibilizate de contactul cu

antigenul. Limfokinele induc activarea macrofagelor, determinînd o activitate bactericidă crescută față de toate bacteriile cu localizare intramacrofagică. În același timp crește răspunsul umoral specific prin anticorpii rezultați, amplificîndu-se activitatea fagocitară antibacteriană.

Răspunsul imun în infecțiile virale prezintă unele aspecte particulare, legate de faptul că acești agenți patogeni se multiplică strict în celulele organismului gazdă. Totdeauna un anumit virus infectează celule de un anumit tip, provenite de la o anumită specie de animale. Virusul se fixează selectiv pe aceste celule care au receptori specifici pentru virusul infectant. După fixarea sa virusul pătrunde în celulă și deturnează metabolismul acesteia în favoarea sa, impunînd o nouă coordonare genică, aceea a genomului său. În apărarea față de infecția virală intervin atît reacții imune umorale cît și reacții celulare. Rolul anticorpilor antivirali este eficient numai în anumite cazuri (enterovirusuri, arbovirusuri), cu toate că apariția anticorpilor neutralizanți în serul organismelor infectate viral este un proces mult mai general, ducînd la imposibilitatea particulei virale de a se mai fixa pe receptorii celulari. În unele cazuri neutralizarea este facilitată de complement. În prezența acestuia anticorpii determină liza celulelor ce poartă antigene virale pe suprafața lor. Prin opsonizare, anticorpii antivirali facilitează de asemenea fagocitarea virusurilor de către macrofage. Mecanismele de apărare imună mediate celular implică atît citotoxicitatea celulară, în care celulele infectate cu virus sînt lizate de limfocitele T sensibilizate sau de către macrofag, cît și producerea de limfokine ce atrag celulele efectoare ce distrug virusul sau celula infectată cu virus. Dintre limfokine cele mai importante sînt interferonii (IFN), o familie de proteine produse de celulele somatice ca răspuns la numeroși stimuli, inclusiv cei virotici. IFN sînt specifici față de specia care i-a produs ; ei sînt secretați mai rapid decît anticorpii specifici, avînd astfel un rol important în apărarea antivirală în care intervin prin sinteza, de către celula gazdă, a unor proteine anti-virale ce blochează replicarea virală. IFN exercită și alte acțiuni, nu numai antivirale, fiind implicați și în reglarea răspunsului imun, în apărarea față de alți paraziți intracelulari, ca și în apărarea antitumorală.

Răspunsul imun inițiat de pătrunderea unor bacterii și virusuri într-un organism duce de obicei la distrugerea agentului patogen, rezolvînd infecția și realizînd o stare de rezistență (imunitate) dobîndită, specifică față de agresor.

2. **Răspunsul imun în transplantul de organe.** Transplantarea de organe este acum destul de des realizată în practica medicală, totuși un procent destul de ridicat de grefe se soldează cu eșec, în special cînd donatorul nu era înrudit cu primitorul organului (țesutului) grefat. Acest eșec se leagă aproape în întregime de răspunsul imun al primitorului față de antigenele de histocompatibilitate străine ale donatorului. În funcție de asemănarea dintre caracterele de histocompatibilitate ale donatorului și primitorului de grefă, se pot defini patru categorii de grefe :

— autografe (grefe autologe), cînd pacientul primește un grefon provenit din propriile-i țesuturi ;

— grefe singenice, cînd donatorul și primitorul sînt identici genetic (gemeni univitelini) ;

— grefe alogenice (alografe), în cazul în care donatorul și primitorul aparțin aceleiași specii, dar sînt genetic diferiți ;

— xenografe (grefe xenogenice) în cazul în care donatorul și primitorul aparțin unor specii diferite.

Rejecția alografei și a xenografei este determinată atît de un răspuns imun umoral cît și de unul celular. Anticorpii preexistenți în serul primitorului pot reacționa cu celulele donatorului. În cazul rejecției hiperacute al unui transplant de rinichi, de exemplu, anticorpii preexistenți intră în rinichiul donat unde reacționează cu determinanții antigenici ai celulelor endoteliale ale capilarelor din rinichiul donat. Prin activarea complementului sînt atrase granulocitele care distrug celulele endoteliale. În aceste locuri denudate ale capilarelor se atașează plachetele care activează coagularea sîngelui, ceea ce duce la obstrucția vaselor de sînge și, deci, provoacă moartea rinichiului transplantat. Rejecția mai tardivă este mai lentă. Celulele rinichiului donat eliberează antigene solubile care, intrînd în ganglionii limfatici, stimulează proliferarea limfocitelor B care se transformă în plasmocite ce vor secreta anticorpi specifici. Alte limfocite sînt sensibilizate și devin citotoxice. Anticorpii specifici precum și limfocitele sensibilizate se vor întoarce în rinichiul donat și-l vor distruge.

Dar și țesutul grefat poate să dezvolte o serie de procese imune îndreptate împotriva organismului primitor, reacție cunoscută ca reacția grefei-contra-gazdă (GvH). Ea este mai evidentă mai ales cînd gazda este imunoincompetentă. În inițierea și dezvoltarea reacției GvH limfocitele T grefate dețin rolul de bază. Ele proliferează, înlocuind în scurt timp celulele T ale organismului primitor de grefă. Aceste limfocite se maturează și dobîndesc calitatea de celule T citotoxice cu specificitate față de celulele primitorului, care devin celule-țintă. Efectul distructiv al acestora se exercită și asupra celulelor Ts ale gazdei, ducînd la apariția unor procese de malignizare, în absența procesului de supraveghere imună.

3. **Supravegherea antitumorală.** Ideea că celulele tumorale pot fi supuse controlului sistemului imun al gazdei a început să fie acceptată acum 15—20 de ani, în urma unor studii efectuate pe tumori induse experimental, cînd a devenit clar că rejectarea imună a tumorilor transplantate poate fi indusă la primitori preimunizați.

Protecția oferită de răspunsul imun față de antigenele tumorale depinde de abilitatea acestor antigene de a servi ca țintă pentru sistemul imun al gazdei. Existînd o heterogenitate imensă a antigenelor tumorale, s-ar putea ca supravegherea și apărarea naturală față de neoplazii să existe în mai multe forme. Răspunsul imun solicitat de antigenele tumorale este foarte complex, incluzînd activitatea celulelor NK *(natural killer)*, generarea limfocitelor sensibilizate, a macrofagelor activate și formarea de anticorpi. Aceste răspunsuri constituie o parte dintr-o rețea imunologică supusă unor mecanisme de *feed-back*, implicînd generarea celulelor Ts și a macrofagelor. În plus, dezvoltarea tumorii însăși produce factori solubili specifici și nespecifici, incluzînd antigene tumorale circulante și complexe imune, care interferă cu imunitatea medială celular. Figura 15 reprezintă schematic interrelațiile dintre imunitatea umorală și imunitatea celulară care intervin în inhibarea sau facilitarea creșterii tumorale.

Teoretic există mai multe mecanisme prin care celulele tumorale scapă de sub supravegherea imună a gazdei. Un rol important îl dețin rearanjările topografice ale diferitelor componente ale membranei celulei tumorale care determină expresia unor proprietăți de suprafață alterate și a unor caracteristici funcționale aberante. Aceasta se corelează cu capacitatea acestor celule de a crește nelimitat, de a invada și a metastaza.

Scăparea de sub supravegherea sistemului imun al gazdei a celulelor tumorale se poate explica prin imposibilitatea lor de a fi recunoscute ca străine, dată fiind îndepărtarea, mascarea sau redistribuirea determinan-

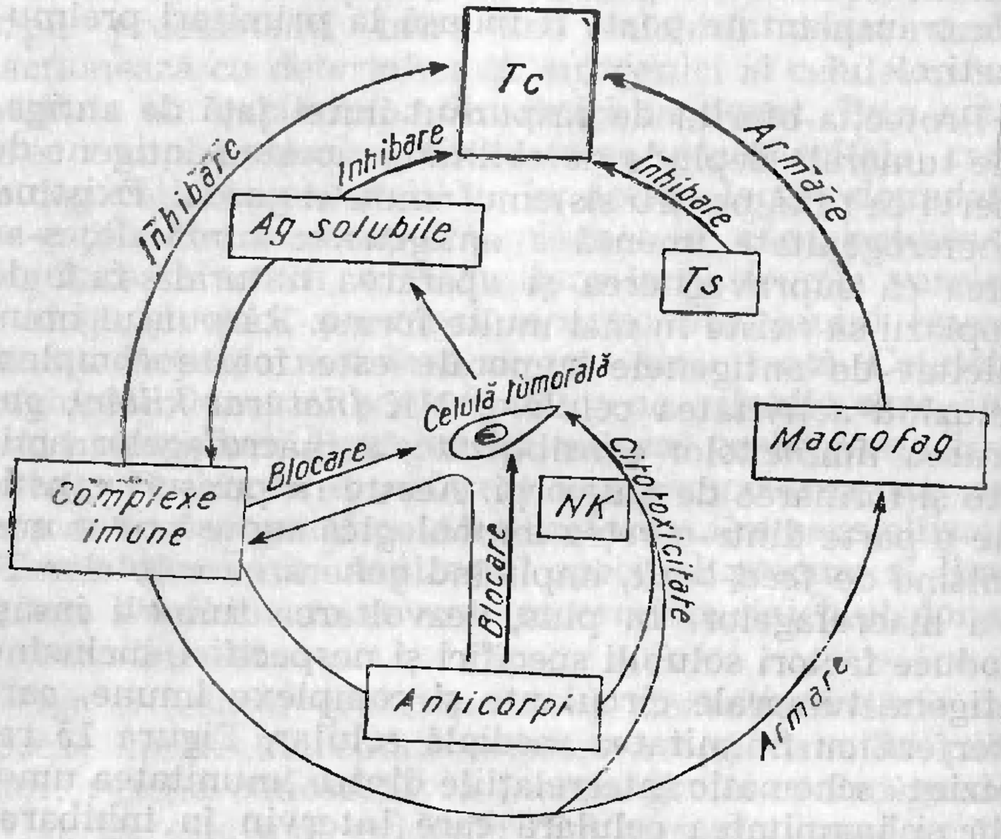

Fig. 15 — Interrelații între imunitatea umorală și imunitatea celulară în inhibarea sau stimularea creșterii tumorale (după Byers V.).

ților antigenici de pe suprafața celulelor tumorale. Pe de altă parte celulele tumorale pot evita liza imună mediată de complement, probabil prin redistribuirea receptorilor pe suprafața celulară. De asemenea, celula malignă poate să elibereze antigenele sau complexele

antigen-anticorp de pe suprafața lor, acestea acționînd ca factori blocanți care interferă cu imunitatea antitumorală a gazdei.

Din complexul de fenomene care participă la imunitatea antitumorală rezultă că în marea majoritate a cazurilor momentul decisiv este situat în perioada apariției primelor celule malignizate. Dacă în acest moment supravegherea imună este eficientă, atunci procesul tumorigen poate fi controlat. Dacă însă acesta nu funcționează și procesul de malignizare se amplifică, restabilirea ulterioară a capacității normale de răspuns imun nu mai ajută eficient la eliminarea tumorii.

Am descris pînă acum mai multe tipuri de răspuns imun față de diferite antigene recunoscute ca *non-self*. Se pune problema, de ce și prin ce mecanisme sistemul imun „tolerează" structurile proprii, asigurînd astfel menținerea unui *status quo*. *Toleranța imună* este rezultatul unui proces fiziologic activ și nu o simplă lipsă de răspuns imun. Ea este indusă încă din timpul vieții embrio-fetale, cînd toate clonele de limfocite capabile să răspundă la autoantigene sînt eliminate înainte de maturație. Această ipoteză se leagă de teoria originală a „clonelor interzise" a lui Burnett, care postulează că celulele capabile să reacționeze contra propriilor antigene ar fi eliminate în timpul ontogeniei pentru a preveni răspunsurile autoimune. Mai recent s-a ajuns la concluzia că aceste clone celulare nu dispar, ci sînt reprimate funcțional și numeric de către anumite sisteme de control în care participă și limfocitele T.

Starea de toleranță poate fi indusă și față de antigene cu care organismul a mai venit în contact (toleranță imună dobîndită), afectînd atît imunitatea celulară cît și pe cea umorală. Inducerea stării de toleranță imună la animale adulte depinde de imunocompetența

susței pe care se experimentează, ca și de natura, doza și calea de administrarea antigenului. Administrarea antigenului în doze foarte mici sau în doze foarte mari reprezintă metoda cea mai frecvent utilizată pentru a induce toleranța imunologică, existînd deci o toleranță de zonă joasă și o toleranță de zonă înaltă.

Toleranța imună poate fi transferată la animale singenice iradiate prin limfocite, fiind demonstrat atît rolul limfocitelor T cît și al limfocitelor B în acest proces. S-a dovedit de asemenea prezența de celule Ts, care dețin un rol important mai ales în toleranța indusă de doze slabe de antigen.

Toleranța față de grefe alogenice și față de tumori este indusă și menținută atît prin factori umorali, cît și prin factori celulari, intervenția celulelor Ts sensibilizate specific față de antigene apărînd ca deosebit de importantă.

CE BOLI POT PRODUCE DEREGLĂRILE IMUNITĂȚII

De ce se studiază imunitatea ? De ce atîția zeci de mii de imunologi din toată lumea se străduiesc să descopere realitatea tuturor aspectelor funcționale ale sistemului imun ? De ce se alocă sume importante pentru efectuarea lucrărilor din laboratoare ? Există un singur răspuns : deoarece sistemul imun este cel mai important sistem biologic, de apărare a integrității organismului față de agresiunea continuă a diverșilor factori din mediul intern și extern. Lezarea lui, în orice punct, poate deschide porți de invadare a organismului prin : bacterii, virusi, fungi, protozoare, ce produc infecții, boli. într-adevăr, sistemul imun este solicitat în mai toată patologia umană cunoscută, prin dereglări cauzale sau secundare.

În această lucrare ne limităm să conturăm cîteva din aspectele mai importante ale dereglărilor funcționale ale sistemului imun. Nu se includ și modificările proliferative care conduc la tumori maligne formate din componentele celulare ale imunității ce au suferit o transformare malignă, subiectul fiind prea vast, extinzîndu-se în domeniile virusologiei și oncologiei.

Dezvoltarea imunologiei în ultimii ani se bazează pe cercetări experimentale canalizate mai ales pe procesele

de reglare a imunității la animale. Unele sindroame imunologice de la om nu pot fi însă reproduse prin experimente de laborator și oamenii de știință le consideră cu drept cuvînt ca adevărate „experimente ale naturii".

Datorită numeroșilor factori și interrelații implicați în răspunsul imun, posibilitatea de defecțiune ce condiționează starea de boală, s-a calculat la un număr foarte mare, de 10^{11} posibilități de îmbolnăvire. În stadiul actual al cercetărilor clinice se identifică mult mai puține, dar perfecționarea neîntreruptă a tehnicilor de investigație poate contura noi entități patologice.

Ca și răspunsul imun, patologia lui reflectă aceeași capacitate de intercondiționare. Acest aspect important trebuie mereu avut în vedere, deoarece se constată în unele boli imune, dereglări și în alte sectoare ale imunității (fig. 16).

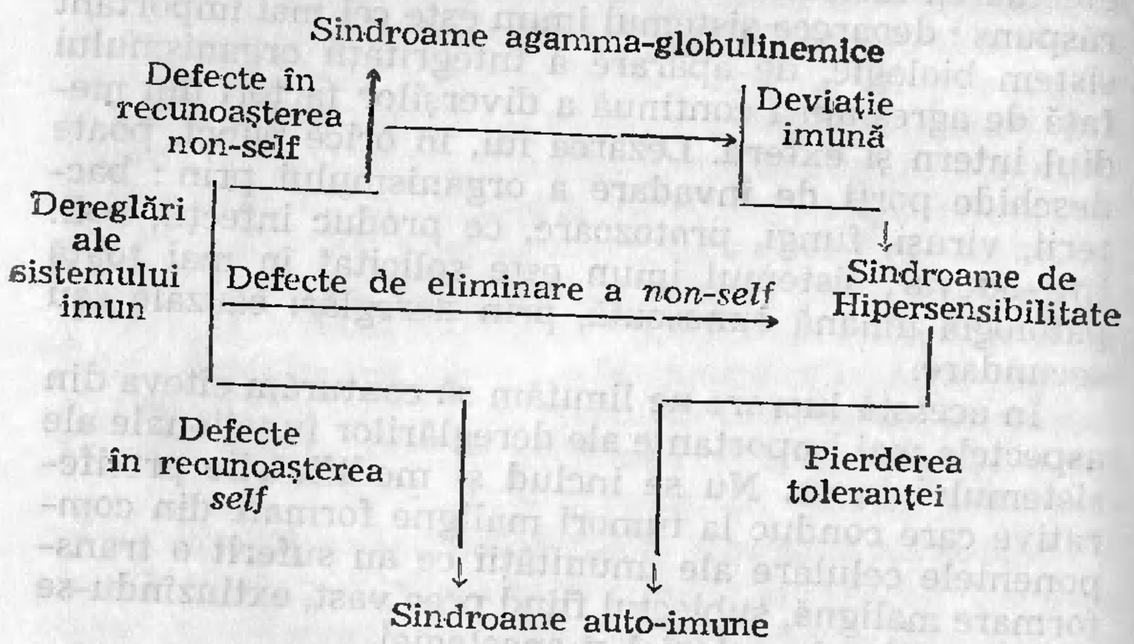

Fig. 16 — Schema unității sindroamelor de patologie imună cu posibilitățile lor de intercondiționare (după Berceanu Șt.).

Rezultatele numeroaselor cercetări actuale pot fi sintetizate într-o schemă simplificată a răspunsului imun, privit prin cele două mari laturi ale sale (fig. 17) :

1) reacția imună față de *non-self* sau antigeni străini ;

2) toleranța imună față de *self* sau antigenii proprii. Funcționarea lor normală asigură starea de sănătate și de integritate a organismului.

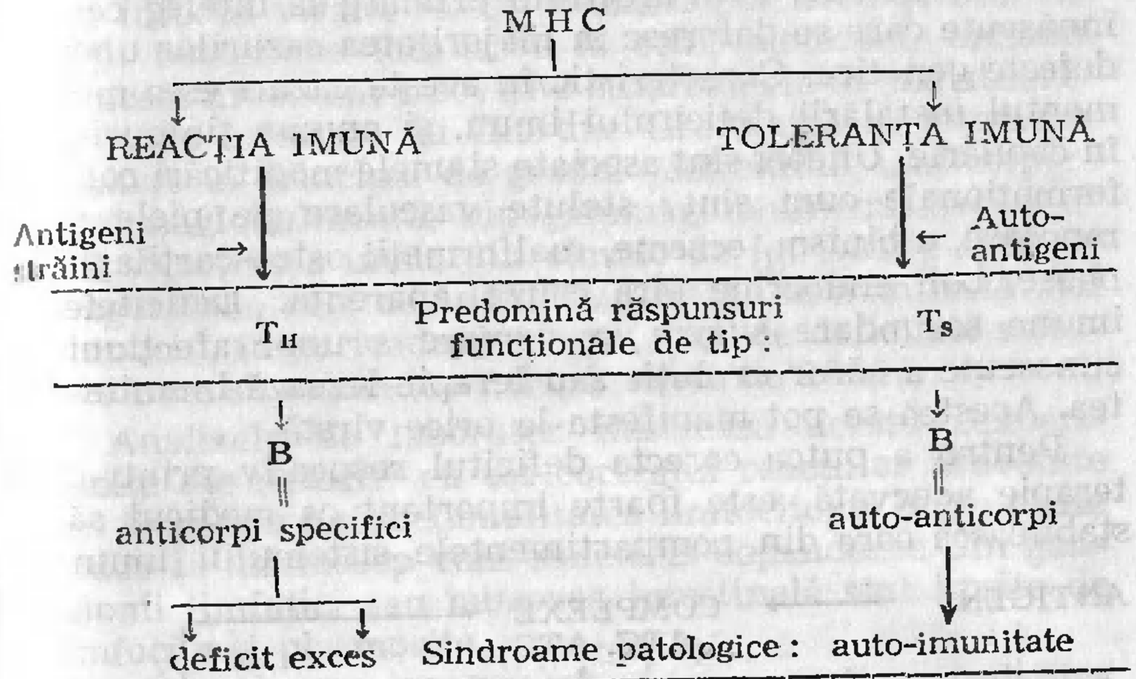

Fig. 17 — Schema răspunsului imun cu cele două mari laturi ale sale.

Dereglările ce modifică aceste două aspecte duc la sindroame ce pot fi grupate în trei mari categorii : 1) deficite imune ; 2) exces de reacție imună ; 3) auto-imunitate.

Vom vedea în cele ce urmează că indiferent de tipul sindromului de dereglare rezultat, fenomenul cauzal constă totdeauna într-un *deficit* aparent sau camuflat al unuia din sectoarele răspunsului imun.

Deficitele imune

Bănuiala că un om are o imunitate deficitară este sugerată de prezența unei infecții cronice rezistente la terapie sau de infecții repetate, dar mai ales cu germeni care în mod obișnuit nu sînt patogeni.

Medicul poate stabili dacă deficitul este primar sau secundar, pe baza examenului clinic și a anumitor analize de laborator. Prin afecțiuni primare se înțeleg cele înnăscute care se datoresc în majoritatea cazurilor unor defecte genetice. Caracteristic în aceste cazuri este momentul instalării deficitului imun, și anume timpuriu, în copilărie. Uneori sînt asociate și unele modificări conformaționale cum sînt : steluțe vasculare pe piele și mucoase, albinism, eczeme, malformații osteo-cartilaginoase, boli endocrine fără cauză aparentă. Deficitele imune secundare survin ca urmare a unor afecțiuni cunoscute a căror evoluție sau terapie lezează imunitatea. Acestea se pot manifesta la orice vîrstă.

Pentru a putea corecta deficitul respectiv printr-o terapie adecvată, este foarte important ca medicul să stabilească care din compartimentele sistemului imun

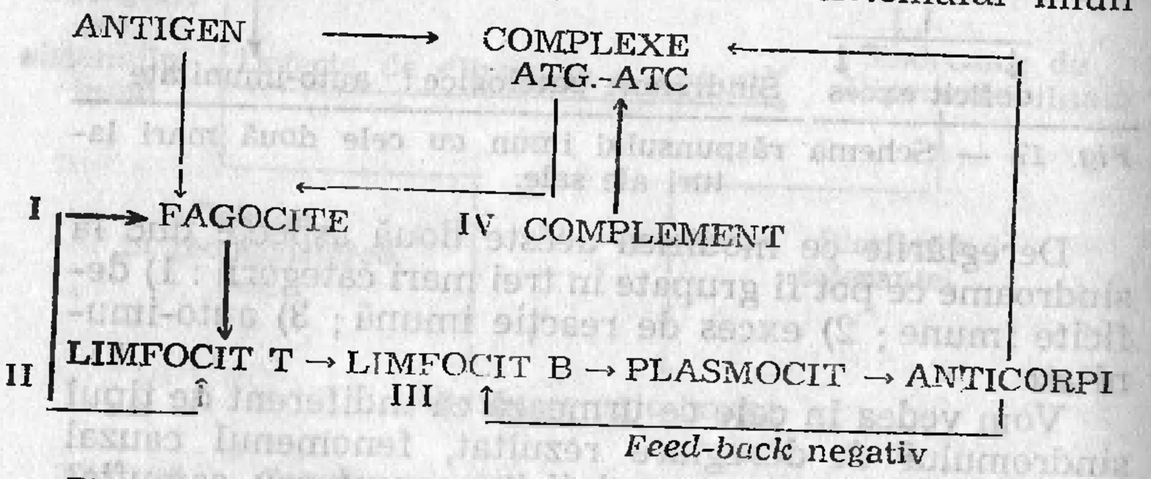

Fig. 18 — Schema răspunsului imun normal cu cele patru compartimente majore ce pot fi deficitare (după Berceanu Șt.).

implicat (fig. 18). În acest sens un mare ajutor îl poate oferi cunoașterea naturii infecției respective, care în raport cu sectorul celular solicitat în apărare poate indica tipul de boală imunodeficitară. Astfel deficitul limfocitelor B de producere de anticorpi se manifestă prin infecții repetate cu germeni extracelulari piogeni ce produc : otite, pneumonii, meningite, septicemii rezistente la tratament ; în schimb nu se produc infecții virale. Acești bolnavi pot avea și alte infecții bacteriene localizate la ochi, piele sau intestin. La acest nivel sînt frecvente sindroamele de malabsorbție și de infestare cu Giardia. Gravitatea simptomelor depinde în principal de gradul deficitului anticorpic : agammaglobulinemii, hipogammaglobulinemii sau deficite selective a uneia din clasele de Ig. Dintre formele congenitale, cele cu deficit Ig total se manifestă mai timpuriu, în perioada de sugar, față de deficitele selective care se evidențiază după vîrsta de 10 ani.

Analizele de laborator ilustrează aceste „experimente ale naturii“ cu tot cortegiul reacțiilor provenite din lipsa sau nefuncționalitatea limfocitelor B. Se poate vedea la microscop cum zonele B dependente din ganglionii limfatici sau mucoasa intestinală sînt lipsite de limfocite și plasmocite.

Teoretic aceste deficite imune moștenite sau dobîndite, pot fi localizate la nivelul uneia din etapele procesului de diferențiere a limfocitelor așa cum se ilustrează în fig. 18.

Dintre deficitele de anticorpi, trebuie amintită forma de hipogammaglobulinemie trecătoare a sugarului. Se manifestă în jur de 6 luni după naștere, perioadă cînd anticorpii materni încep să diminueze. Durează pînă la 2 ani cînd limfocitele B își reiau spontan capacitatea de sinteză de anticorpi.

Forma de hipogammaglobulinemie dobîndită prin mecanism neprecizat, poate apărea la tineri și adulți, cu manifestări infecțioase, malabsorbție, slăbire, creșterea ganglionilor și splinei. Caracteristică este asocierea cu boli autoimune ca : artrita reumatoidă, lupus eritematos diseminat, purpură, anemie hemolitică, dermatomiozită. Este foarte important să se evite vaccinarea obișnuită din copilărie, acești bolnavi putînd dezvolta infecții grave. Singura metodă de tratament cu rezultate foarte bune este aportul de Ig din preparate de gamaglobulină sau din plasmă proaspătă sau înghețată, însoțit de antibioterapie.

Un aspect aparte îl constituie deficitele selective de IgA care sînt și cele mai frecvente. Se instalează după 10 ani sau chiar la vîrsta adultă, cu manifestări foarte grave sau fără acuze. Se evidențiază prin infecții pulmonare repetate sau boli intestinale cu diaree cronică. Lipsa barierei funcționale intestinale deținute de IgA secretor explică aceste simptome ca și asocierea cu alergii și boli autoimune. Terapia cu gammaglobulină sau plasmă poate fi contraindicată prin prezența autoanticorpilor anti IgA din unele cazuri, permițîndu-se numai transfuzia cu hematii spălate.

Deficitele imunității celulare, ale limfocitelor T, sînt rare în forma pură. Se caracterizează prin infecții cu germeni intracelulari microbi sau virusuri, prin micoze, paraziți. Se adaugă și o incapacitate de a răspunde la imunizare prin anticorpi. În sindromul Di George, infecțiile consecutive lipsei timusului sînt totuși pe ultimul plan ca gravitate, în comparație cu malformațiile cardiace congenitale și a tetaniei care le însoțesc. Încercările eroice de terapie cu grefare de timus fetal sau injecții de hormoni timici, au permis efectuarea intervenției chirurgicale cardiace pentru salvarea unor ca-

zuri. Mai puțin zgomotoasă, dar la fel de greu de tratat, este candidoza cronică, boală congenitală, însoțită de boli endocrine.

O mare dificultate în tratarea acestor bolnavi o reprezintă riscul de a dezvolta o reacție „grefă contra gazdă" după transfuzii de sînge sau plasmă. Reacția se produce tipic cînd există diferențe de histocompatibilitate sau gazda este deficitară, ca în aceste cazuri. Odată apărută, sub formă acută sau cronică, această reacție este intratabilă. De aceea, în cazurile de deficit de li.T, sîngele de transfuzat se iradiază în prealabil cu 3 000—6 000R.

Imunodeficitele combinate T și B sînt în general congenitale. Manifestările însumate ale celor două tipuri de deficit pot varia de la forme severe ce apar de la naștere și evoluează numai un an, pînă la forme medii cu infecții repetate instalate în cursul copilăriei. În aceste cazuri se remarcă sensibilitatea față de germeni obișnuit nepatogeni, „oportuniști". Bolnavii au de asemenea riscul de a dezvolta o reacție grefă contra gazdă după transfuzii și de a face infecții grave postvaccinale. Se descriu o serie de entități clinice asociate cu diferite alte manifestări, cum sînt : cele neurologice, vasculare, trombocitopenii, eczeme, malformații osteocartilaginoase ale membrelor, încetinirea dezvoltării psiho-somatice. Tratamentul cauzal cu transplant histocompatibil de măduvă osoasă, ca aport de celule de origine a limfocitelor T și B, a dus la restabilirea funcțiilor imune în multe cazuri.

S-au descris forme noi de deficite limfocitare ce se datoresc lipsei congenitale sau dobîndite a unor enzime cu rol esențial în diferențierea celulară. Cunoașterea lor oferă posibilități și perspective încurajatoare pentru terapie.

Un alt grup de deficite datorate lipsei unor enzime din căile metabolice ce acționează în procesul omorîrii bacteriilor, sînt deficitele fagocitozei. Manifestările infecțioase variază de la infecții repetate ale pielii, pînă la infecții sistemice severe. Caracteristică este frecvența germenilor întîlniți : cei obișnuit nepatogeni și Candida. Confirmarea diagnosticului se efectuează prin teste specifice de laborator ce evaluează chemotaxia și puterea bactericidă. Formele severe necesită antibioterapie susținută.

Cu toate că factorii de complement participă în procesul de fagocitoză, multe din deficitele de complement nu se asociază cu infecții. În schimb, ca și în alte deficite imune, se întîlnesc diferite boli autoimune într-o frecvență crescută.

Se menționează în același sens o evoluție deseori întîlnită spre neoplazie a unor deficite imune.

Nenumărate entități patologice se însoțesc de deficite imune secundare. În unele boli, cum sînt lepra și tuberculoza, imunodeficitul este temporar, dispărînd în urma tratamentului specific. În alte cazuri, deficitul imun rămîne permanent, de ex. în rubeola congenitală. Majoritatea infecțiilor acute virale ca : rujeolă, herpes, herpes zoster, citomegalo-virus, Epstein-Barr etc. se însoțesc de reducerea temporară a hipersensibilității tardive, de limfopenie cu scăderea numărului de li.T. O scădere similară a factorilor imunității mediate celular, cu o creștere de Ig, se întîlnește în unele boli autoimune.

Factorii ce produc aceste deficite imune secundare pot fi foarte diferiți. Astfel există sindroame cu pierderi importante proteice : sindromul nefrotic, enteropatii, malnutriție, arsuri, ce se însoțesc de tulburări ale imunității umorale și celulare. Reducerea acesteia din

urmă se întîlnește frecvent în dereglările metabolice din diabetul zaharat, ciroza alcoolică și în uremie.

În sindromul fiziologic, generat de timp, comun tuturor oamenilor, care este bătrînețea, se întîlnesc frecvent reduceri ale imunității mediate celular și a răspunsului secundar la anumiți antigeni.

În unele boli cu potențial malign, socotite „de graniță", deficitul imun apare pe primul plan al simptomatologiei. O importanță deosebită pentru evoluția bolii, o prezintă imunodeficitele din cancer. Sînt frecvente în tumori solide, limfom, mielom, leucemii acute și cronice. Însăși prezența tumorii modifică posibilitatea de răspuns imun prin diverse mecanisme încă insuficient cunoscute. Desigur că o contribuție importantă, în agravarea stării deficitare, o au terapia agresivă imunosupresoare instituită, ca și malnutriția din stadiile avansate.

Este deosebit de important să recunoaștem și să tratăm un deficit imun secundar, deoarece el deschide poarta pentru noi infecții cu germeni „oportuniști", care sînt greu de tratat.

Așa cum se știe, nici una din bolile de deficit imun nu are model experimental la animal, iar producerea dereglărilor este explicată în mod indirect. În secolul nostru, însă, sîntem martorii unui model de experiment natural realizat prin sindromul imunodeficitar dobîndit, SIDA. Se poate urmări în secvență tragedia infecției virotice, a instalării deficitului imun, a accentuării lui prin nenumărate infecții „oportuniste" și în final transformarea neoplazică. SIDA, această boală nouă, fascinantă, descoperită abia în 1931, cu frecvență crescîndă (9—10 cazuri pe zi în SUA), ce seceră mii de oameni, este similară cu o plagă a mileniului al doilea. Evoluția progresivă spre moarte, în ciuda tuturor mane-

vrelor terapeutice moderne, folosite de la reanimare la transplante, lipsa unei terapii specifice, au generat panică unei părți importante din populația globului.

Boala se caracterizează printr-o asociere neîntîlnită în mod obișnuit, între infecții grave cu germeni „oportuniști" însemnînd imunodeficit, cu o boală malignă, sarcomul Kaposi.

Evoluția clinică a bolii se face în două etape :

— în etapa I pe fond de aparentă sănătate, apar transpirații nocturne, erupție purpurică pe piele, mărirea de volum a ganglionilor întîi latero-cervicali, urmînd cei axilari și inghinali. Această stare poate dura de la 6 luni pînă la un an ;

— în a II-a etapă boala este confirmată cu febră, diaree, scădere în greutate și asocierea mai multor tipuri de infecții : cu germeni „oportuniști" micoze, virusuri, tuberculoză. Enumerăm pe cele mai frecvent observate : pneumonia cu pneumocistis carinii, toxoplasmoza cerebrală, enterite cu cryptosporidium, micoze generalizate cu Candida, Aspergilus, infecții cu citomegalovirus sau herpetice sau infecție diseminată cu micobacterie avium. Contrastează mult starea generală foarte alterată din această perioadă cu starea anterioară de deplină sănătate. În evoluția bolii pot apărea tumori maligne. Cel mai frecvent se asociază sarcomul Kaposi mai ales la persoanele purtătoare de antigeni de histocompatibilitate de tip HLA-DR5. Pot apărea însă și limfoame maligne în creier, ganglioni, organe interne sau carcinoame de rect, pulmon, epitelioame ale limbii sau anusului.

Invazia organismului este semnalizată prin producerea de anticorpi a căror prezență în sînge indică „seropozitivitatea" individului. Alte examene de laborator subliniază reducerea limfocitelor T4 și a funcțiilor

imune pe care le mediază. În schimb limfocitele B sînt normale, detectîndu-se însă unele dereglări ale Ig și prezența de complexe imune circulante.

Tratarea infecțiilor similare sau neoplaziilor, apărute la bolnavii fără imunodeficit, obține unele rezultate bune. Dar în cazul bolnavilor cu SIDA, datorită fondului de depresie imună, evoluția bolii este letală în proporție de 100% în cîțiva ani de la diagnostic.

Trebuie menționat că boala se produce numai la anumite persoane ce constituie „grupele de risc" :

— homosexuali ;

— persoane cu contacte multiple și parteneri anonimi ;

— cei ce se droghează pe cale injectabilă ;

— persoane politransfuzate cu sînge sau cu produse de sînge, datorită specificului unei boli de bază cum este hemofilia.

Cauza bolii a constituit o enigmă timp de trei ani, perioadă în care grupuri de cercetători organizați în centre speciale, bazați pe legislații și fonduri de susținere, au acumulat un număr imens de lucrări științifice, reușind în final să identifice agentul patogen. În anul 1984, două grupuri separate de cercetători, unul de la Institutul Pasteur din Franța, condus de Luc Montaguier și altul din SUA condus de R. C. Gallo, identifică cîte un virus, care s-a dovedit apoi a fi unul și același cu denumiri diferite : LAV, HTLV III sau HIV *(Human-deficiency-virus)*. Fiind o descoperire atît de importantă pentru epoca noastră, ne permitem să o detaliem. Este un retrovirus de tip ARN diploid, ce conține trei gene :

— gag codifică proteina corpului viral sau *Core* ;

— pol, enzima revers transcriptaza, care în timpul replicării virale sintetizează un ADN complementar ARN-ului viral ;

— env, codifică învelișul viral.

Ca orice alt virus, el se înmulțește în celulele vii și anume are atracție pentru limfocitele T4 pe care le lezează și le distruge. Dispariția acestor celule cu funcție reglatoare pozitivă, de importanță crucială în răspunsurile imune, explică intensitatea deficitului imun.

Un aspect interesant este că rudele virotice apropiate, HTLV I și II, ce infectează tot limfocitele T umane, induc transformarea lor neoplazică sub formă de leucemii sau limfoame, în unele zone endemice de pe glob. Dintre cele două acțiuni, nu știm care este mai blîndă !

Atracția HTLV III pentru li.T4 se datorește unui receptor purtat pe suprafața limfocitelor, care se potrivește ca o matrice cu unele molecule de pe suprafața virală. Celulele lipsite de acest receptor, nu vor fi infectate. Secvențele infectării limfocitelor T4 sînt ilustrate în fig. 19.

După circuitul în interiorul limfocitelor T4, virușii sînt răspîndiți în sînge, de unde pot infecta alte li.T4. Un aspect deosebit îl constituie capacitatea lui de propagare directă de la un li.T4 la altul fără a mai călători prin sînge, proprietate care-l ajută să scape de acțiunea distrugătoare a anticorpilor gazdei.

Cum se transmite infecția ? Virusul a fost izolat din numeroase țesuturi și produse : sînge, spermă, secreții vaginale, salivă, lacrimi, țesut limfatic, creier, măduvă osoasă, lapte matern, urină și fecale. Transmiterea sigură se face prin leziune de contact cu secrețiile persoanei infectate. Marele noroc este că virusul este foarte sensibil la agenții dezinfectanți (alcool, cloramină) și nu trăiește mult în mediul extern. Ghinionul constă în perioada lungă de infecție inaparentă a purtătorilor „sănătoși".

De unde provine acest virus ? Se bănuiește Africa, unde frecvența purtătorilor sănătoși sero-pozitivi este

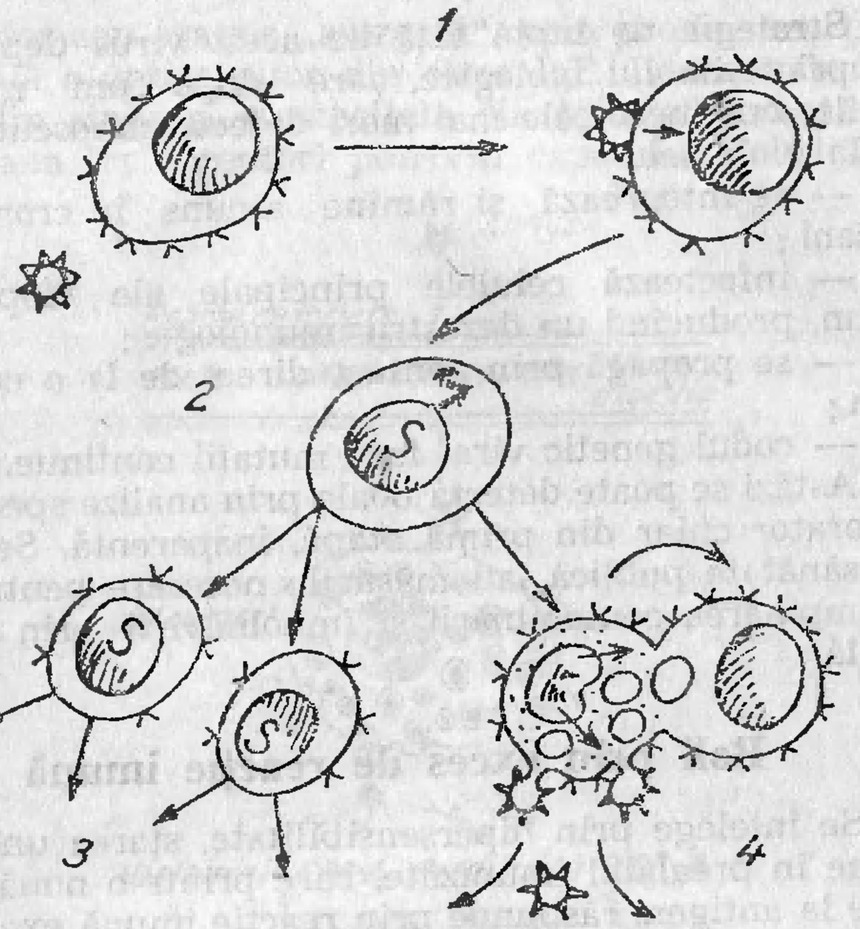

Fig. 19 — Secvențele infectării cu virus HIV. 1. Prin contact cu receptorii limfocitului TA, virusul pătrunde în celulă ; 2. Produce ADN viral complementar ce se integrează în nucleul limfocitului, realizînd starea de „provirus" persistent și 3. transmisibilă celulelor fiice ; 4. la o stimulare a ei. T4 se produc noi particule virale ce distrug celula și se răspîndesc în exterior sau prin contact direct infectează alt li.T4 indemn.

foarte mare. Dacă virusul este de origine animală încă nu s-a dovedit. În mod cert, maimuțele și alte mamifere fac sindroame asemănătoare prin infecții cu Retrovirusuri îndurite, dar nu identice.

Strategia de luptă față de acest virus depinde de proprietățile lui biologice, care după cum menționa Gallo, întrunesc cele mai mari defecte cunoscute în istoria biologiei :

— se integrează și rămîne ascuns în cromozomii umani ;

— infectează celulele principale ale răspunsului imun, producînd un dezastru imunologic ;

— se propagă prin contact direct de la o celulă la alta ;

— codul genetic viral face mutații continue.

Astăzi se poate detecta boala prin analize speciale de laborator chiar din prima etapă, inaparentă. Serviciile de sănătate publică iau măsurile necesare pentru prevenirea contaminării și îmbolnăvirii prin această boală.

Boli prin exces de reacție imună

Se înțelege prin hipersensibilitate, starea unei persoane în prealabil imunizate, care printr-o nouă expunere la antigen, răspunde prin reacție imună exagerată, ce provoacă leziuni tisulare cu afectarea diferitelor organe sau sisteme.

Aceste dereglări imune au putut fi reproduse prin modele experimentale la animale și pot fi transferate la alt individ prin ser. După mecanismul de producere se împart în două mari entități :

— boli alergice

— boli prin complexe imune

Boli alergice

Oamenii care fac alergii au o predispoziție înnăscută de a răspune la antigenii nepatogeni aflați în mediul înconjurător sau așa-zis „alergeni", prin producerea preferențială a anticorpilor din clasa IgE. Leucocitele bazofile din sînge și mastocitele din țesuturi, poartă pe membrana lor receptori potriviți capătului Fc al IgE,

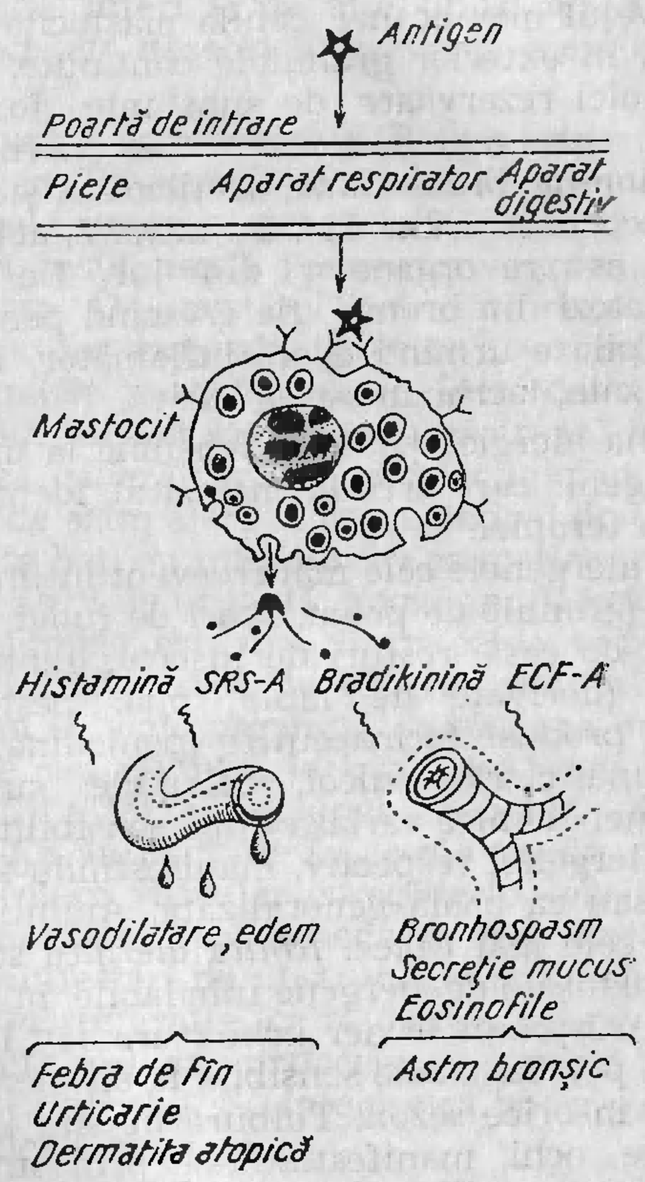

Fig. 20 — Mecanismul imunologic de producere a leziunilor tisulare în reacția atopică.

putînd lega cca 10 000—40 000 de molecule IgE pe celulă. La o nouă pătrundere în organism a aceluiași alergen, acesta va reacționa cu anticorpii purtați pe mastocite (fig. 20). În urma conflictului antigen-anticorp produs la nivelul membranei, celula mastocitară suferă și eliberează în exterior granulele conținute. Acestea reprezintă mici rezervoare de substanțe foarte active: histamina, substanța lent reactivă a anafilaxiei, heparina, serotonina, bradikinina, acetilcolina și un factor ce atrage leucocitele eozinofile. Ca urmare, acțiunea lor se manifestă asupra organelor din jur, fie contractînd mușchii netezi din bronșii, fie crescînd permeabilitatea vaselor capilare urmînd edem inflamator, fie cresc secrețiile nazale, lacrimale sau gastrice.

Persoana alergică poate fi sensibilă la unul sau mai mulți alergeni, care trebuie neapărat identificați pentru reușita terapiei.

Dintre alergenele cele mai frecvent întîlnite sînt cele inhalabile (granule de polen, spori de fungi, păr de animale, praf de casă, resturi de insecte, gunoi de grajd), ingerabile (derivate de lapte, ouă, pește, căpșuni, zmeură) și produse farmaceutice (penicilină, streptomicină, aspirină, cloramfenicol, sulfamide, substanțe iodate). Formele clinice variază după sensibilitatea și contactul cu alergenul respectiv, manifestîndu-se cu semne localizate sau ca boală generalizată. Amintim pe scurt cîteva din cele mai tipice. *Rinita alergică* sau febra de fîn este declanșată de alergene inhalabile, în primul rînd de polenul răspîndit în aer primăvara sau la începutul verii. Dacă persoana este sensibilă la alt alergen, crizele pot apărea în orice sezon. Tulburările sînt localizate la rino-faringe, ochi, manifestîndu-se prin strănut, rinoree, obstrucție nazală, blefaro-conjunctivită. În plus, bolnavul poate prezenta dureri de cap și musculare, fără alterarea stării generale.

Astmul alergic are mecanismul de producere asemănător cu rinita, procesul alergic fiind localizat la nivelul bronșiilor. Este o boală cronică ce apare din copilărie. Bolnavul poate suferi și de alte tipuri de alergii. În familie se constată deseori o frecvență crescută de boli alergice.

Criza de astm este declanșată de o expunere la un anumit alergen. Se manifestă fie ca un ușor disconfort respirator sau dispnee cu greutate în respirație ce poate duce pînă la insuficiență respiratorie gravă, ce poate amenința viața. Diagnosticul este confirmat de unele teste de laborator cum sînt prezența eozinofilelor în spută și în număr crescut în sînge. Între crize, individul poate fi un om perfect sănătos sau păstrează continuu o expirație grea, șuierătoare. Medicul clinician stabilește diagnosticul de astm alergic, deosebindu-l de cel idiopatic sau de alte boli cu manifestări astmatice, în vederea instituirii terapiei de urgență. *Șocul anafilactic*, așa cum îl descrie și numele, este una dintre cele mai periculoase reacții alergice. Procesul de hipersensibilitate se produce simultan în toate organele, ca răspuns imediat (cîteva secunde sau minute) la ingerarea sau injectarea unui alergen. La fel, riscul unei înțepături de insectă, se cunoaște din antichitate. În aceste cazuri, predomină semnele de colaps vascular cu scăderea tensiunii, stare de leșin, inima bate prea repede și chiar neregulat. Se adaugă și manifestări de obstrucție nazală sau bronșică cu greutate în respirație, ca și diaree. La nivelul pielii pot apărea pete roșii sau urticarie, ce persistă mult timp după încetarea șocului. Se înțelese că boala constituie o urgență medicală serioasă.

Alergia localizată la nivelul pielii se manifestă cel mai frecvent prin *urticarie*. Este o afecțiune obișnuit întîlnită în copilărie și fără gravitate. Alergenele incri-

minate sînt cele de natură alimentară sau medicamentoasă. Dar poate fi provocată de unele infecții, de parazitoze și agravată prin stări emoționale. Urticaria se manifestă la nivelul pielii prin zone de umflătură, cu mîncărime. Se pot produce fenomene urticariene similare prin agenți fizici ; prin expunere la frig sau soare, al căror mecanism de producere este nealergic și încă necunoscut. Unele forme cu aspect de urticarie cronică fac parte din entitatea edemului angio-neurotic, boală ereditară, produsă prin activarea complementului datorită deficitului de inhibitor natural.

Abordarea clinică este similară în general, în toate cazurile de boală alergică. Astfel pentru stabilirea diagnosticului este deosebit de important să se precizeze dacă au existat și alte episoade alergice anterioare ale bolnavului sau în familie. Identificarea alergenului se efectuează în laboratoare specializate prin teste cutanate sau prin metode de culturi celulare în mediu artificial. Nivelul crescut al anticorpilor IgE în sînge este laborios de determinat, și nu contribuie mult la precizarea diagnosticului. După ce s-a identificat alergenul cauzal, se aplică tratamentul preventiv de îndepărtare sau evitarea contactului cu acesta. Tratamentul curativ este în funcție de forma clinică a bolii. Valoarea maximă terapeutică o are desensibilizarea specifică, însă este obligatoriu să fie instituită numai de medic și personal autorizat.

Boli prin complexe imune

Un alt tip de reactivitate imună exagerată este realizat printr-o serie de anomalii ale factorilor care iau parte la formarea și eliminarea fiziologică a complexelor imune. În mod normal, în urma contactului antigenului cu anticorpul, se formează complexe imune menținute

în stare solubilă în circulație. Pe măsura formării lor, ele sînt recunoscute de receptorii celulelor macrofage și polinucleare care le fagocitează, eliminîndu-le sau curățind sîngele.

Producerea de dereglări ale acestor mecanisme fiziologice de curățare are ca urmare precipitarea complexelor imune în pereții vasculari (fig. 21). Această situație

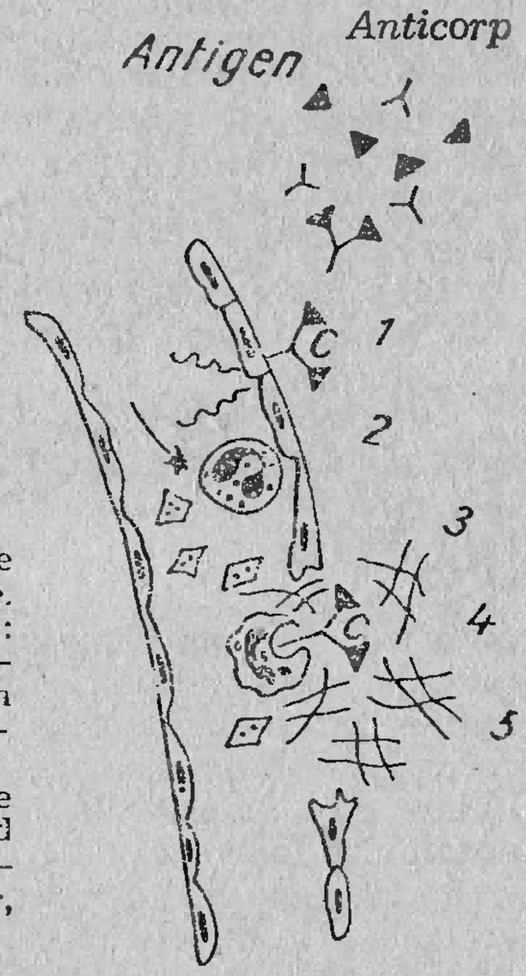

Fig. 21 — Schema producerii de leziuni prin complexe imune. 1. formarea complexelor imune : atg-atc-c' ; 2. eliberarea factorilor chemotaxici ; 3. agregarea trombocitelor, coagulare, permeabilizare ; 4. leucocitele fagocitează complexele imune fixate în peretele vasului, eliberînd enzimele lizozomale, 5. care lezează vasul, țesuturile din jur, plus depunere de fibrină.

provoacă o înlănțuire de fenomene nespecifice inflamatorii în care actorii principali sînt : complementul, trombocitele, leucocitele polinucleare și macrofagele. Fiecare din ei activează sau secretă enzime, ce condiționează in-

trarea în scenă a următorului factor. Se reușește în final fagocitarea complexelor imune, dar în contextul unei explozii enzimatice care lezează țesuturile din jur, putînd ajunge pînă la necroză. Leziunile se produc deci într-o succesiune, trecîndu-se de la procese imune specifice, la procese inflamatorii nespecifice.

Care sînt factorii responsabili de precipitarea complexelor imune ? Sînt incriminate nenumărate condiții, cu pondere variabilă, dintre care vom aminti pe cele mai importante. Dintre acestea, determinismul genetic sau terenul are rol important atît la animal, cît și la om. Mecanismul leziunilor prin complexe imune s-a observat că depinde de specia de animal și chiar în cadrul speciei există grade diferite de sensibilitate. Studiile la om indică o frecvență familială, ca și pentru alte boli alergice.

Alt factor important este antigenul, natura lui, totdeauna macromolecular. Poate fi exogen : proteine străine, microbi, viruși, medicamente cuplate cu proteine serice sau poate fi endogen, autoantigen.

Dacă la animal este importantă calea și doza de administrare, la om generarea complexelor imune precipitabile este condiționată de persistența în organism a antigenului ce stimulează continuu producerea de anticorpi. Această persistență a antigenului și a complexelor imune este amplificată de incapacitatea funcțională a sistemului macrofagic de a le elimina. Situația se întîlnește în unele boli genetice, în blocarea sistemului macrofagic prin infecții microbiene sau parazitare sau prin lipsa de activare a macrofagelor datorită limfocitelor T defective.

Experimental se pot reproduce la animal leziuni prin complexe imune în reacția denumită „Arthus". Aspectul complementar la om este realizat de boala „serului", produsă în urma inoculării de proteină din serul altei

specii. În prezent se cunosc multe entități asociate cu formare de complexe imune intravasculare, ce produc leziuni inflamatorii în țesuturile din jur. Acestea sînt denumite cu un termen generic „boli prin complexe imune". Grupul cuprinde boli generalizate sau localizate la diverse organe, dar toate au în comun modul lor de producere. Se pot enumera : purpura Schönlein-Henoch, pneumonia interstițială a crescătorilor de animale, nefropatii acute și cronice, alergii medicamentoase, vasculopatii cu crioglobuline. Un loc aparte este ocupat de grupul mare al bolilor de colagen, a căror producere este mixtă : complexe imune și autoimunitate. În aceste cazuri se pare că hiperstimularea inițială prin antigene exogene duce la ruperea toleranței față de antigenele proprii și se continuă astfel, realizînd aspectul de boală autoimună.

Semnele clinice ale bolilor prin complexe imune sînt legate de manifestările țesuturilor sau organelor lezate prin depunerea acestor complexe, ca și prin solicitarea sistemului macrofagic. Examenele de laborator pot identifica atît complexele imune circulante, cît și componența specifică din factori de complement și imunoglobuline, a celor precipitate în țesuturi.

Ca exemplu de boală localizată este *pneumonia interstițială* a crescătorilor de animale. Complexele imune depuse în țesutul din interstițiul pulmonar produc simptomele acute respiratorii respective. Simptomele generalizate din *boala serului* oglindesc depunerea complexelor imune în vasele de sînge cu solicitarea sistemului macrofagic din splină și ficat. Boala se remite cu o medicație corespunzătoare.

O boală tipică, ca o vasculită hiperergică asemănătoare bolii serului, este *purpura Schönlein-Henoch*, ce apare la copii după o infecție a căilor aeriene cu streptococ. Se recunoaște după leziunile purpurice de pe piele,

uneori însoțite de urticarie, inflamații ale articulațiilor mîinilor și picioarelor, crampe abdominale și pierderi de sînge prin urină. Are un caracter trecător, necesitînd o medicație simptomatică.

Cu mecanism asemănător se produce și *cardita reumatismală*, care impune un tratament susținut.

Leziuni prin complexe imune pot complica și agrava unele infecții cronice de lungă durată, cum sînt : luesul, lepra, tuberculoza, toxo- și histoplasmoza.

Bolile autoimune

La omul normal nu se produc reacții imune față de celulele și țesuturile proprii, natura asigurînd acel *horor autotoxicus*. Se tolerează astfel antigenele proprii printr-un fenomen biologic activ, comandat genetic, dezvoltat în perioada embrionară și menținut prin cooperarea limfocitelor T_S-T_H-B (fig. 17).

Un dezechilibru de reglare, cu supraproducere de li.T_H sau cu scădere de li.T_S, conduce la activarea acelor clone B deținînd potențial autoreactiv, inactive, dar prezente în mod fiziologic. Rezultă ruperea toleranței cu producerea autoimunității, reprezentată de reacții nocive ale auto-anticorpilor sau celulelor imune T_C sau T_{DH} față de antigenele proprii.

Se întîlnesc astfel de reacții autoimune într-o serie de infecții cronice, în răspunsuri imune la unele medicamente, ca și în procesul de îmbătrînire. Aceste manifestări autoimune pot fi trecătoare, dispărînd după eradicarea cauzei infecțioase sau toxice. Există însă un întreg domeniu din patologie ce cuprinde boli produse în mod predominant prin mecanism autoimun. Aceste boli autoimune pot afecta diferite aparate și sisteme : boli ale sistemului nervos, glandelor endocrine, ochiului, țesutului colagen, țesutului hematopoietic, aparatului digestiv și ficatului.

Rolul important în producerea dereglărilor autoimune se datorează a trei mari categorii de factori : genetici, imunologici și virali.

Baza genetică a anomaliilor autoimune este ilustrată de o boală spontană ce apare la o linie de șoareci NZB. Se manifestă cu anemie hemolitică, glomerulo-nefrită și simptome generale ca în lupusul eritematos diseminat. Boala evoluează fatal, mai ales prin producere de tumori maligne.

Terenul joacă rol important și la om, constatîndu-se o frecventă asociere între boli autoimune și componente ale sistemului major de histocompatibilitate HLA :

— HLA-B8, HLA-DRw3-tiroidită cronică, hepatită cronică activă, *miastenia gravis ;*
— HLA-DRw2-scleroză multiplă ;
— HLA-DRw4-artrită reumatoidă ;
— HLA-B27-spodilartrită anchilozantă.

Se discută mult un mecanism comun de producere al bolilor cu deficit imun și al autoimunității, aspecte ilustrate de numeroase entități clinice (fig. 16).

Diferite modele experimentale lucrate pe animale, ca și exemple din clinica umană, sugerează rolul important al infecției virotice în producerea bolilor autoimune. Virușii pot interfera cu funcția normală imunologică sau pot modifica anumite componente tisulare, producînd răspunsuri imune anormale. Desigur că în declanșarea acestor boli contribuie în plus nenumărați factori. Nu toate mecanismele de producere sînt pe deplin cunoscute. Încercăm să sistematizăm, pur schematic, care sînt mecanismele incriminate în producerea bolilor autoimune :

1) Trecerea în circulație a unei mari cantități de antigene proprii „sechestrate". Acestea sînt antigenele astfel situate încît sînt inaccesibile limfocitelor, care astfel în cursul vieții fetale n-au dobîndit toleranță față de ele. Se enumeră : mielina, proteina din cristalin, tireoglobulina, materialul spermatogenic. Leziunile lor pot activa clonele limfocitare B deținînd imunocompetență față de ele, producînd boala respectivă : neuropatie demielinizantă, oftalmia simpatică, tiroidita autoimună, aspermia autoimună.

2) Apariția de antigeni anormali : fie că unii antigeni străini au structuri asemănătoare cu cei proprii și provoacă reacții imune încrucișate, fie că antigeni infecțioși sau toxici modifică structura antigenelor proprii care nu mai sînt recunoscute de sistemul imun. Tipic este cazul glomerulo-nefritei acute cu anticorpi anti membrană bazală glomerulară, diferite neutropenii și trombocitopenii medicamentoase.

3) Tulburarea situată la nivelul celulelor imunologic-competente, activează clonele li.B „interzise", ce sintetizează Ig anormale. Mecanismul declanșator poate fi o hiperstimulare imună prezentă în bolile cu complexe imune, tip boli de colagen.

Mutațiile maligne sînt cauza multor dereglări autoimune ce însoțesc limfoproliferările maligne, cea mai frecventă fiind anemia hemolitică autoimună.

Prin ce criterii recunoaștem o boală autoimună ?

Sînt în general boli inflamatorii cronice cu perioade de exacerbări și remisiuni, care sînt limitate la un organ sau pot fi generalizate. Titrul crescut de gammaglobuline și scăzut al complementului, infiltratele tisulare limfo-plasmocitare sînt comune tuturor stărilor inflamatorii. Specifice sînt 3 aspecte :

1) identificarea de autoanticorpi cu specificitate de organ sau țesut ;

2) reproducerea leziunilor umane la animal prin injectare de extrase sau broiate celulare ;

3) efectul bun al tratamentului cu cortico-steroizi, care în plus față de acțiunea anti-inflamatorie, suprimă limfocitele producătoare de auto-anticorpi.

Auto-anticorpii pot fi liberi în circulație sau fixați în anumite țesuturi pe celule. Testele de laborator sînt pozitive în prima instanță. Se înțelege că un test negativ nu are valoare absolută, neputînd evidenția anticorpii fixați, nici reacțiile celulare de hipersensibilitate întîrziată, prezente în unele cazuri.

Scopul lucrării fiind acela de a scoate în evidență aspectele caracteristice, ne vom limita să trecem în revistă o parte din bolile cele mai obișnuit întîlnite.

Anemia hemolitică autoimună, prima entitate descrisă, este și cea în care găsirea anticorpilor circulanți, stabilește diagnosticul. Fără cauză evidentă sau produsă în urma altor afecțiuni : imune (lupus eritematos diseminat, purpură trombocitopenică, sarcoidoză, hepatită cronică), infecții virotice (pneumonie, mononucleoză infecțioasă), limfoproliferări maligne. Mai frecventă la femei, se poate manifesta în mod variabil, de la forme discrete, cu subicter, pînă la forme fulgerătoare cu hemoliză acută. La bătrîni este întîlnită forma benignă cu învinețirea extremităților. Hematiile bolnavilor sînt normal conformate, dar sînt atacate de anticorpi antihematie. Cînd aceștia sînt complеți, hematiile sînt distruse chiar în circulație, iar sub forma incompletă ei induc exagerarea procesului normal de eritro-fagocitoză în splină.

Bolnavii vor avea paloare, aspect icteric mai redus sau mai accentuat și mărirea de volum a splinei. Boala este vindecabilă prin îndepărtarea chirurgicală a splinei, corticoterapie și imunosupresie.

Lupusul eritematos diseminat este o boală cu complexe imune de cauză necunoscută, caracterizată prin producerea de anticorpi ce reacționează cu componentele proprii, mai ales cu nucleii celulari. Boala este a întregului organism, dar semnele sînt variabile de la bolnav la bolnav. Manifestările principale, cele mai des întîlnite, produse în urma activării complementului prin complexe imune, sînt : vasculita, inflamația seroaselor, sinovita, glomerulo-nefrita, dermatita simetrică plasată pe zonele expuse la soare.

Există o predispoziție familială legată de prezența antigenelor HLA-B8, HLA-A11, HLA-B35. La șoareci s-au descris mai multe gene ale căror defecțiune predispune unei boli asemănătoare.

Evoluția bolii este la fel de capricioasă ca și producerea simptomelor, putîndu-se realiza remisiuni spontane sau forme severe. Progresele terapeutice din ultimii ani au îmbunătățit mult cursul bolii, ducînd la remisiuni de lungă durată. Studiile de la animal, la care boala poate fi prevenită prin restabilirea funcției supresoare celulare normale, oferă premisele de aplicare și la om a unor procedee similare, în viitorul apropiat.

Poliartrita reumatoidă este o boală cronică a articulațiilor. Inflamația începe de la articulațiile mici, avansează centripet, în mod simetric, ducînd la deformări. Grave sînt mai ales manifestările extraarticulare ce cuprind cordul. Și în această boală există o predispoziție genetică dovedită de frecvența HLA-DRw4. Aceste gene predispun la răspunsuri patogene față de substanțe cum sînt colagenul sau Ig din complexele imune. Acest răspuns produce sinovita și distrugerea articulației. Evoluția bolii este în general lentă, cu 50% din cazuri ameliorate sau staționare și 70% ce pot avea activitate normală.

Perspective în manipularea bolilor imunității

Efortul terapeutic în vederea normalizării imunității cuprinde trei mari sectoare ale patologiei : bolile infecțioase, bolile canceroase și dereglările imune. Vom trece în revistă pe scurt cîteva din uluitoarele progrese obținute în ultimul timp în aceste domenii, ce s-au realizat într-un ritm atît de rapid datorită dezvoltării explozive a biologiei moleculare, geneticii, imunologiei și ale tehnologiilor corespunzătoare.

Vaccinările clasice cu microorganisme atenuate sau omorîte, care au putut stăvili grozavele epidemii ce au bîntuit lumea pînă nu demult, prezintă și unele neajunsuri. Dintre acestea menționăm riscul bolnavilor imunodeficitari de a contracta tocmai boala indusă prin vaccinare. În prezent se poate izola numai proteina antigenică de pe suprafața microorganismului, care inițiază răspuns imun, fără a fi nocivă. Prin inginerie genetică sau prin sinteză chimică se pot produce cantități mari din aceste proteine, ce servesc ca materie primă pentru vaccinare. În ciuda acestor tehnici avansate, producerea de noi vaccinuri devine o muncă din ce în ce mai grea. S-au observat anumite proprietăți ale microorganismelor invadatoare, care pot să îngreuneze mult metodele de vaccinare. Așa este cazul virusului gripal care face mutații frecvente, schimbîndu-și antigenele, a virusului „răcelii“ ca și a protozoarului malariei care pot avea nenumărate forme variate. Culmea este atinsă de virusul HIV ce produce SIDA. În capitolele anterioare s-au menționat proprietățile acestui virus, care-l ajută să scape de supravegherea și uciderea imună a gazdei și în același timp prin care spoliază ireversibil sistemul imunologic. Unul din obiectivele de prevenire a bolii SIDA este folosirea unui vaccin care să stimuleze sis-

temul imun înainte ca virusul să pătrundă în limfocitele T4. Se pare că și anticorpii anti-HIV izolați de la purtători sănătoși, ar reprezenta o speranță în același sens. În prezent sînt mobilizați oameni de știință din toată lumea pentru fabricarea unui vaccin eficient antiviral. Se folosesc toate tehnologiile moderne. Unii cercetători au realizat o proteină sintetică care a dat rezultate promițătoare în testele pe animale. În această campanie fără precedent, unii dintre cercetători se descurajează în fața greutăților întîmpinate, alții, dimpotrivă, merg atît de departe încît testează vaccinurile produse pe propria lor persoană.

Un alt instrument valoros de diagnostic și tratament îl reprezintă anticorpii monoclonali. Prin tehnologia de preparare, se poate obține după voință o anumită specificitate, omogenitate și ca avantaj în plus, și cantități mari. Pînă în prezent s-a obținut o gamă largă de specificități direcționate anti-microbian, -viral, -parazitar, -tumoral, anti-idiotipic sau de secreție a diferitelor limfokine. În consecință perspectivele terapiei cu anticorpi monoclonali cuprind multe domenii din medicină. Astfel, în infecții severe sau la bolnavii cu deficite imune, se preconizează instituirea de vaccinuri cu acești imunogeni puri, anticorpi monoclonali direcționați specific față de agentul cauzal.

Prepararea anticorpilor monoclonali anti-idiotipici reprezintă o modalitate nouă și de perspectivă pentru terapia bolilor autoimune. Speranțele sînt mari și în oncologie, unde se urmărește țintirea celulei tumorale cu anticorpi monoclonali specifici cuplați cu drog antitumoral, evitîndu-se lezarea celorlalte celule sănătoase din organism.

S-au preparat anticorpi monoclonali ce pot exprima chiar funcții ale anumitor subpopulații de limfocite T.

Utilizarea lor în clinică *va permite* programarea dorită, de creștere sau de reducere a răspunsului imun. Într-adevăr, acesta este deziderатul major în manipularea dereglărilor imunității, care sînt atît de greu de tratat. Se înțelege în ce constă dificultatea : în însăși structura sistemului imun. După cum am văzut, sistemul imun este format dintr-o rețea de molecule cu acțiuni specifice și nespecifice de intercondiționare inversă. Această imagine ne ajută să înțelegem de ce unele medicamente imunosupresoare pot fi și imunostimulatoare în anumite condiții, ca și aspectul invers.

Pentru a evalua efectul unui medicament asupra răspunsului imun trebuie mai întîi să cunoaștem procesul fiziologic al reacției imune respective. Multe din aceste aspecte pot fi lămurite cu precizie de testele de laborator. Se întîmpină și la acest nivel o serie de dificultăți. În primul rînd testele se efectuează *in vitro* și nu reflectă statusul imun al organismului ca întreg. De aici se ivește necesitatea interpretării rezultatelor în contextul clinic. Un alt aspect este limitarea studiului pe om, de la care se pot preleva pentru studiu imunologic celular, numai limfocitele din sînge. Baza de aplicare a unei terapii țintite la om este reprezentată de cercetarea fundamentală efectuată cu animale de experiență sau cu celule cultivate artificial, folosind tehnici din ce în ce mai specializate.

Răspunsurile imune pot fi modulate în plus, prin metode imuno-stimulatoare sau în minus, prin imunosupresie, în funcție de afecțiune și de efectul urmărit.

În cazul deficitelor imune congenitale sau dobîndite, în infecții grave, ca și în neoplazii, se folosesc numeroase procedee de imuno-stimulare, dintre care se menționează :

— Imunoterapia cu BCG etc. crește răspunsul respectiv anamnestic care este deprimat, ca și activarea celulelor NK.

— Levamisolul, cunoscut ca antihelmintic, are și acțiune de normalizare a fagocitozei și a funcției li.T.

— Factorii de transfer, prezenți în dializatele limfocitare, au efect de stimulare a macrofagelor și limfocitelor prin mecanism încă neelucidat.

Hormonii timici reprezintă un domeniu în care s-a progresat mult în ultimii ani. Prin tehnicile de clonare-recombinare de ADN, ei pot fi sintetizați. Acționînd în diferite etape ale maturării limfocitelor T, ei redresează răspunsul imun deprimat.

Una dintre speranțele cele mai mari terapeutice, bazate pe cercetări recente, sînt semnalele chimice sau limfokinele ce reglează sistemul imun. Se descoperă mereu noi entități funcționale. De la Interleukina 1, s-a ajuns în prezent la IL-7 și IL-8 și știința merge mai departe. Folosirea IL-2 în tratarea cancerelor avansate de piele și de rinichi a condus la rezultate încurajatoare. Acțiunea ei principală de activare și maturare celulară este sinergică cu cea a Interferonului alfa. Acesta se aplică cu mult succes în tratarea bolilor virale, anumitor tumori maligne și leucemii. Față de preparatele actuale de IFN, foarte scumpe datorită metodelor de precificități direcționate anti-microbian, -viral, parazi- deschid perspective pentru viitorul apropiat.

Folosirea medicației imunstimulatoare trebuie aplicată cu multă prudență, din cauza riscului inducerii de boli autoimune, alte manifestări de hiperstimulare și chiar transformare neoplazică

Procedeele de imunosupresie sînt necesare în vederea modulării unui răspuns imun exagerat din bolile autoimune sau în tehnica transplantării de organe. De obicei se folosesc substanțe antimetabolice, alkilante, hormoni corticosteroizi, antibiotice de tip Cyclosporin A și iradiere. Acționează direct asupra membranei celulare sau inhibă sintezele celulare. Cyclosporin A este un supresor selectiv pentru li.T *helper*. Împiedicîndu-i activarea, se evită atacul și distrugerea țesuturilor transplantate. În plus, Cyclosporina păstrează intacte mecanismele de apărare antiinfecțioasă.

Sînt cunoscute efectele secundare nocive și complicațiile infecțioase ale imuno-supresiei. În cazul Cyclosporinei s-a observat creșterea incidenței limfoamelor după tratament prelungit.

Noile cercetări și metodologii din domeniul biologiei moleculare vor permite prepararea sintetică a diferitelor medicamente sau vaccinuri cu acțiune țintită, lipsite de efecte nocive secundare. În lumina moleculelor modulatoare fiziologice vom putea înțelege modul de acțiune a medicamentelor imunomodulatoare cu factorii specifici și nespecifici din diferitele etape ale răspunsului imun.

Redactor de carte : Dr. **ANTON IONESCU**
Tehnoredactor : **PETRE BOBOCICĂ**
Bun de tipar : 19.02.1990
Formatul : 32/10 x 100
Hîrtia : Hîrtie scris IA/70 x 100
Coli tipar : 3,5
Tiparul executat : OLTENIA

MEDICINA PENTRU TOȚI

83

ISBN 973-39-0090-7

Lei 20

EDITURA MEDICALĂ